

ANNE WITTE

ZUR FRAGE DER ZUVERLÄSSIGKEIT DER ERMITTLUNG VON
HÄMATOKRIT UND MITTLEREM ERYTHROZYTENEINZELVOLUMEN (MCV)
IM ELEKTRONISCHEN MESSGERÄT (COULTER COUNTER):
VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN AN .
NORMO-, MAKRO- UND MIKROZYTÄREN ERYTHROZYTEN.



1978



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554611_0051

AUS DER KINDERKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
IM DR. VON HAUNER'SCHEN KINDERSPITAL
DIREKTOR: PROF. DR. K. BETKE

ZUR FRAGE DER ZUVERLÄSSIGKEIT DER ERMITTLUNG VON
HÄMATOKRIT UND MITTLEREM ERYTHROZYTENEINZELVOLUMEN (MCV)
IM ELEKTRONISCHEN MESSGERÄT (COULTER COUNTER):
VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN AN
NORMO-, MAKRO- UND MIKROZYTÄREN ERYTHROZYTEN.

INAUGURAL - DISSERTATION
ZUR ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE IN DER GESAMTEN MEDIZIN
AN DER LUDWIG-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT MÜNCHEN

VORGELEGT VON
ANNE WITTE GEB. SÖHLEMANN

MÜNCHEN

1978

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der
Universität München

Berichterstatter:

Prof. Dr. K. Betke

Mitberichterstatter:

Prof. Dr. H. Ehrhart

Dekan:

Prof. Dr. W. Spann



Tag der mündlichen Prüfung: 11. 7. 1978

MEINEN ELTERN

	INHALTSVERZEICHNIS	SEITE
1.	EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	4
2.	PATIENTEN	6
3.	VORVERSUCHE	10
3.1.	Einfluß von EDTA und Heparin, Lagerungsdauer und Temperatur auf den Hämatokrit	10
3.2.	Einfluß der Zentrifugationszeit auf den Hämatokrit	12
3.3.	Einfluß der Länge der Blutsäule auf den Hämatokrit	14
3.4.	Fehlerquellen	16
4.	METHODEN	17
4.1.	Blutabnahme und Isotopenmarkierung	17
4.2.	Messungen mit dem Coulter Counter F_N und Prinzip der elektronischen Zählung	17
4.3.	Messungen mit der Mikrozentrifuge	20
4.4.	Modifizierung des Mikrohämatokrits mit Phthalsäureestern	21
4.5.	Bestimmung des "trapped plasma"	23
4.6.	Radiojodmethode	24
4.7.	Viskositätsmessung	25
4.8.	Statistische Berechnungen	26
5.	ERGEBNISSE	27
5.1.	Hämatokrit	27
5.1.1.	Vergleich der Werte des Coulter Counters mit denen der Mikrohämatokritmethode (unkorrigiert)	28
5.1.2.	Vergleich der Hämatokritwerte des Coulter Coun- ters mit denen der Mikromethode (korrigiert)	30
5.1.3.	Differenz zwischen Coulter-Hämatokrit und Mikro- hämatokrit in Beziehung zum "trapped plasma"	32

	INHALTSVERZEICHNIS	SEITE
5.1.4.	Vergleich der Hämatokritwerte des Coulter Counters mit denen der Radiojodmethode	34
5.1.5.	"Rechenfehler" des Coulter Counters	36
5.2.	Mittleres korpuskuläres Volumen (MCV)	38
5.2.1.	Vergleich der Werte des Coulter Counters mit denen der Mikrozentrifugenmethode (unkorrigiert)	38
5.2.2.	Vergleich der Werte des Coulter Counters mit denen der Mikrozentrifugenmethode (korrigiert)	40
5.2.3.	Vergleich der MCV-Werte des Coulter Counters mit denen der Phthalsäuremethode (unkorrigiert)	42
5.2.4.	Vergleich der MCV-Werte des Coulter Counters mit denen der Phthalsäuremethode (korrigiert)	44
5.2.5.	Vergleich der MCV-Werte der einfachen Mikromethode mit denen der Phthalsäuremethode	46
5.2.6.	Vergleich der MCV-Werte des Coulter Counters mit denen der Radiojodmethode	48
5.2.7.	Vergleich der Werte der Mikrozentrifugenmethode mit denen der Radiojodmethode	50
5.3.	"Trapped plasma"	52
5.3.1.	"Trapped plasma" und Erythrozytenzahl	52
5.3.2.	"Trapped plasma" und Mikrozentrifugenhämatokrit, korrigiert um das "trapped plasma"	54
5.3.3.	"Trapped plasma" und Erythrozyteneinzelvolumen (MCV der korrigierten Mikromethode)	56
5.3.4.	"Trapped plasma" und Erythrozyteneinzelvolumen (MCV der korrigierten Phthalsäuremethode)	58
5.3.5.	"Trapped plasma" und Viskosität	60
5.4.	Viskosität und MCV	62

	INHALTSVERZEICHNIS	SEITE
6.	DISKUSSION	64
6.1.	Fehlerquellen des Coulter Counters	64
6.1.1.	Ungenauere Verdünnungen	64
6.1.2.	Fehlerhafte Isoton ^R -Charge	64
6.1.3.	Verunreinigungen des Gerätes	65
6.1.4.	Widerstandsänderungen in der Kapillaröffnung	65
6.1.5.	Temperaturschwankungen	65
6.1.6.	Atmosphärische Verunreinigungen	65
6.1.7.	Störungen im Stromnetz	66
6.1.8.	Schwellenwerteinstellung	66
6.1.9.	Koinzidenzfehler	66
6.1.10.	Erythrozytenagglutination	66
6.2.	Fehlerquellen bei der Bestimmung des Mikro- zentrifugenhämatokrits	67
6.2.1.	"Trapped plasma"	67
6.2.2.	Quetschung der Erythrozyten	72
6.2.3.	Ablesefehler	73
6.3.	Einfluß von pH, Antikoagulantien und Lagerungs- zeit auf die zu untersuchenden Blutproben	73
6.4.	Vergleich von Coulter Counter und Mikrozentri- fuge und Wertung der Methoden im Routine- gebrauch	74
7.	ZUSAMMENFASSUNG - SUMMARY	77
8.	TABELLEN	79
9.	LITERATUR	83

1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Bestimmungen von Erythrozytenparametern gehören zu den häufigsten Untersuchungen im Routinelabor. Bei der großen Menge anfallender Blutproben war es naheliegend, zu automatisch arbeitenden Geräten zu greifen, von denen man vor allem auch wünschte, daß sie exakte Daten liefern, exaktere Daten, als sie im allgemeinen durch Zählen und Messen durch eine technische Assistentin erreichbar sind. Am weitesten verbreitet unter diesen Geräten ist zur Zeit das elektronische Zählgerät der Fa. Coulter Electronics Limited, Dunstable, England.

Mit der Automatisierung des Hämatologischen Labors durch komplexe, elektronische Zählgeräte wächst aber auch die Gefahr von systematischen Fehlern; sie können vom Personal oft nicht ohne weiteres entdeckt werden. Im Fall des Coulter-Geräts gilt dies für die Ermittlung des Hämatokrits mehr als für die Erythrozytenzählung, da der Hämatokrit indirekt aus dem mittleren Erythrozyten-Einzelvolumen (MCV) und Erythrozytenzahl berechnet wird, und die MCV-Bestimmung relativ stör anfällig ist (Pinkerton 1970, England und Down 1976).

Während die exakte Zählung der roten Blutkörperchen durch den Coulter Counter gut belegt ist (Pinkerton 1970), ist die Genauigkeit der MCV-Werte des Coulter Counters wenig untersucht worden. Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit bestand deshalb darin, die durch den Coulter Counter bestimmten Hämatokrit- und MCV-Werte mit denen herkömmlicher Methoden zu vergleichen. Es wurden daher simultane Messungen des mittleren korpuskulären Volumens und des Hämatokrits mit dem Coulter Counter einerseits und des Hämatokrits mit der Mikrozentrifuge andererseits durchgeführt.

Da keine der verfügbaren Zentrifugationstechniken Erythrozyten und Plasma vollständig trennt, verbleibt stets ein kleiner Anteil Plasma in der Erythrozytensäule ("trapped plasma"), (Chapin u. Ross 1942, Chaplin u. Mollison 1952, Rustad 1964, England et al. 1971).

Dieses "trapped plasma" wurde durch Zusatz geringer Mengen eines radioaktiven Indikators zum Blut bestimmt. Außerdem wurde der sog. radioaktive Hämatokrit nach der Verdünnungsmethode (Radiojodmethode) gemessen.

Um den Einfluß der Erythrozytengröße auf die Ergebnisse der verschiedenen Methoden zu erkennen, wurde besonderer Wert auf die Untersuchung von Mikro- und Makrozyten gelegt.

Mikrozytosen entstehen überwiegend als Folge von Eisenmangel (Betke 1959b, Klee 1976) und bei Thalassämie (Economou u. Tsenghi 1965, Torlontani et al. 1972, Pearson et al. 1973, Schmaier et al. 1974).

Makrozyten finden sich bei Neugeborenen (Betke 1958, Komazawa 1974), verschiedenen Erkrankungen des hämatopoetischen Systems (Folsäure- und Vitamin-B₁₂-Mangel, aplastische, sideroplastische und hämolytische Anämien) bei Myxödem, Neoplasien und Hepatosen (Chanarin et al. 1973), sowie nach akuten Blutungen (Coopersmith 1969, Brecher et al. 1975).

Sowohl Mikrozytosen als auch Makrozytosen sind im Zusammenhang mit der Eisensubstitution in der Schwangerschaft beschrieben (Taylor u. Lind 1976).

2. PATIENTEN

Untersucht wurde das Blut von insgesamt 107 Probanden der hiesigen Kinderklinik einschließlich der Kinderchirurgischen Klinik, der Medizinischen Klinik Innenstadt und der II. Frauenklinik der Universität München.

Die Probanden wurden nach Kriterien ausgewählt, aus denen auf die Erythrozytengröße geschlossen werden konnte, und dementsprechend in drei Gruppen eingeteilt (Tab. 1):

1. Gesunde erwachsene Probanden (Personal der Klinik) und ältere Kinder mit Erkrankungen ohne Einfluß auf das hämatologische System, z. B. vor Durchführung kleiner chirurgischer Eingriffe (Leistenhernien u. a.). Bei diesen Probanden waren also normozytäre Erythrozyten zu erwarten.
2. Neugeborene, die physiologisch hämoglobinreiche, makrozytäre Erythrozyten aufweisen (Betke 1958).
3. Probanden mit Mikrozytose, z. B. Patienten mit alimentärem Eisenmangel (Betke 1959b).

Von allen 107 Probanden wurde mit Hilfe des Coulter Counters F_N (s. a. Abschnitt 4.2.) des Hämatologischen Routinelabors der Kinderklinik Erythrozytenzahl, Hämoglobinkonzentration und Erythrozyteneinzelvolumen (Abb. 2.1.) sowie mit der Mikrozentrifuge der Hämatokrit (Abschnitt 4.3.) und das "trapped plasma" (Abschnitt 4.5.) bestimmt. Die Phthalsäuremethode zur Hämatokritbestimmung (Abschnitt 4.4.) wurde bei 68, die Radiojodmethode (Abschnitt 4.6.) bei 59 Probanden durchgeführt.

In Abb. 2.1. ist die Anzahl der Probanden der drei Gruppen aufgetragen gegen das MCV. Die schraffierte Fläche entspricht dem normalen Bereich des MCV von 82 - 96 fl (Deutsch u. Geyer 1975).

Tab. 1: Übersicht über die Auswahl der Probanden
nach klinischen Gesichtspunkten

n	Alter	Diagnose
35	Vermutlich mikrozytäre Probanden (10,3 - 2,6 g% Hb)	
30	Kinder unter 3 J.	alimentärer Eisenmangel
5	Erwachsene	konsumierende Erkrankungen mit Eisenmangel
51	Vermutlich normozytäre Probanden (12,9 - 2,4 g% Hb)	
39	Kinder	hämatologisch gesund
12	Erwachsene	hämatologisch gesund
21	Vermutlich makrozytäre Probanden (13,7 - 4,9 g% Hb)	
21	Neugeborene	hämatologisch gesund
107	Gesamtzahl der untersuchten Probanden	

Tab. 2: Verteilung der Gruppen nach dem Normbereich (Deutsch u. Geyer 1975)

Meßdaten (MCV _{KM})	klinische Gesichtspunkte			Σ
	Eisenmangel	normal	Neugeborene	
mikro- zytär	26	10	0	36
normo- zytär	6	36	6	48
makro- zytär	3	5	15	23
Σ	35	51	21	107

Bei 36 (= 70 %) der Probanden der Normalgruppe lag das MCV in diesem Normalbereich, 10 von ihnen hatten eine Mikrozytose und 5 eine Makrozytose. 26 (= 74 %) der Patienten mit Eisenmangel wiesen eine Mikrozytose auf, 6 aus dieser Gruppe waren normozytär, 3 makrozytär. Von 21 Neugeborenen zeigten 15 (= 70 %) eine Makrozytose, die restlichen 6 lagen im Normbereich (Tab. 2).

Abb. 2.2. zeigt die Häufigkeitsverteilung mikro-, normo- und makrozytärer Erythrozyten der untersuchten Probanden.

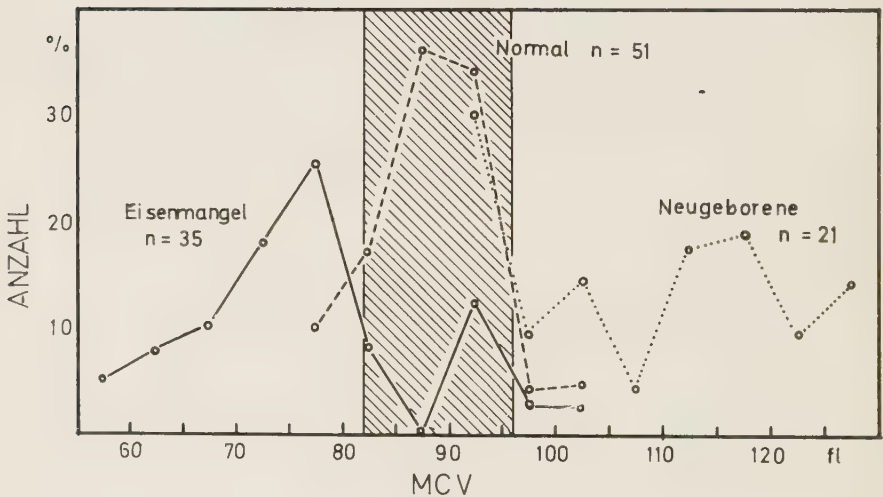


Abb. 2.1.: Häufigkeitsverteilung der mittleren Erythrozytenvolumina (MCV) bei Kindern mit Eisenmangel, gesunden Kindern und Erwachsenen sowie Neugeborenen (Auswahl nach klinischen Gesichtspunkten). Die MCV-Werte wurden routinemäßig mit dem Coulter Counter bestimmt.

▨ = Normbereich nach Deutsch u. Geyer (1975)

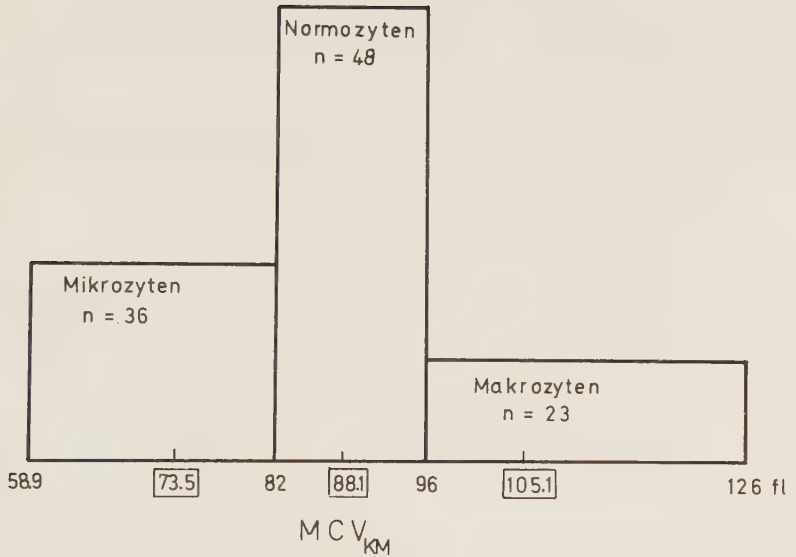


Abb. 2.2.: Häufigkeitsverteilung mikro- ($MCV < 82$ fl), normo- ($MCV 82 - 96$ fl) und makrozytärer ($MCV > 96$ fl) Erythrozyten. Die Flächen repräsentieren die Anzahl der Probanden. Das MCV wurde aus Erythrozytenzahl (Counter) und dem um das "trapped plasma" korrigierten Mikrohämatokrit berechnet.

 = Mittelwerte

3. VORVERSUCHE

Für die Vorversuche zur Methodik der Hämatokritbestimmung wurden von insgesamt 7 gesunden erwachsenen Probanden je ca. 10 ml Blut aus der Cubitalvene entnommen; jeweils etwa 1/3 davon wurde mit Heparin und 2/3 mit EDTA-K₂ ungerinnbar gemacht. Mit einem Teil des EDTA-Blutes wurde nach Abzentrifugieren eine Verdünnungsreihe durch Mischen von Erythrozytenkonzentrat mit Plasma hergestellt.

3.1. EINFLUSS VON EDTA UND HEPARIN, LAGERUNGSDAUER UND TEMPERATUR AUF DEN HÄMATOKRIT

Der Hämatokrit heparinisierter und EDTA versetzter Blutproben von 4 Probanden wurde in Doppelansätzen mit der Mikrozentrifuge 30 und 60 Minuten, 2, 4, 6, 8 und 24 Stunden nach der Entnahme bestimmt. Die Blutproben wurden je zur Hälfte im Kühlschrank oder bei Zimmertemperatur gelagert.

Heparinisierte und EDTA-Blutproben verhielten sich annähernd gleich. Der Hämatokrit des Heparinblutes lag im Mittel um $0,35 \pm 0,10$ Vol.-% bei 4° C (Abb. 3.1.1.) und um $0,37 \pm 0,13$ Vol.-% bei 20° C (Abb. 3.1.2.) über den Werten von EDTA-Blut. Die Lagerungszeit wirkte sich bei 4° C erst nach 8 Stunden aus (Abb. 3.1.1.). Bei 20° C nahm der Hämatokrit bereits nach der ersten Stunde erheblich zu (Abb. 3.1.2.).

Nach diesen Untersuchungen erscheint EDTA-Blut geringfügig zuverlässiger als heparinisiertes Blut zur Messung des Mikrohämatokrits. Bei Zimmertemperatur darf Blut höchstens eine, bei 4° C bis zu 8 Stunden aufbewahrt werden, um zuverlässige Ergebnisse zu erhalten.

Für die vorliegende Arbeit wurden deshalb ausschließlich trockenes EDTA-K₂ enthaltende Plastikröhrchen verwendet (Hackley u. Weiss 1955). Die Blutproben wurden nach Entnahme sofort (d. h. innerhalb von 30 Minuten) verarbeitet oder vor Durchführung der Untersuchung bis zu 4 Stunden (meist 30 bis 120 Minuten) im Kühlschrank aufbewahrt. Es liegt innerhalb der von Schlimbach und Borovizcény angegebenen Zeit von maximal 6 Stunden (1971).

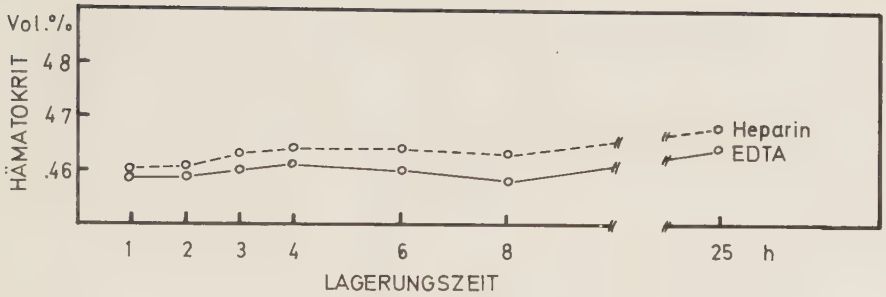


Abb. 3.1.1.: Zusammenhang zwischen Hämatokrit und Lagerungszeit bei 40° C

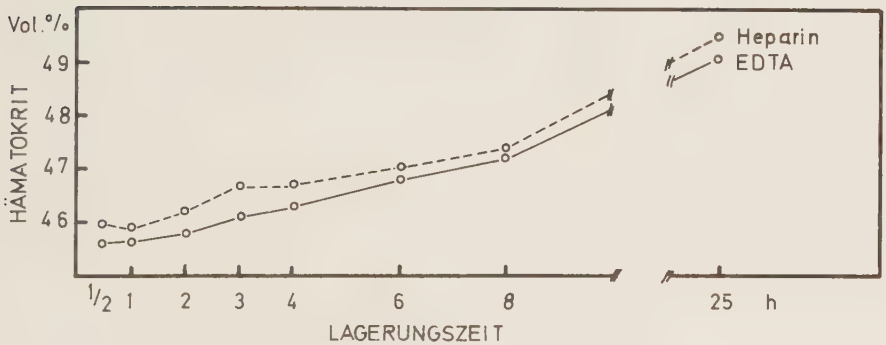


Abb. 3.1.2.: Zusammenhang zwischen Hämatokrit und Lagerungszeit bei 20° C

3.2. EINFLUSS DER ZENTRIFUGATIONSZEIT AUF DEN HÄMATOKRIT

Von den EDTA-Blutproben der 7 Probanden wurden je 2 weitere Proben niedrigeren bzw. höheren Hämatokrits hergestellt, indem nach Zentrifugation Plasma entfernt bzw. hinzugefügt wurde. In den 21 Proben wurde der Hämatokrit nach 2, 6, 10 und 14 Minuten Zentrifugationszeit abgelesen.

Abb. 3.2. zeigt den Mikrohämatokrit aufgetragen gegen die Zentrifugationszeit, wobei nahe beieinander liegende Werte zu Gruppen zusammengefaßt wurden.

Die Abbildung zeigt, daß sich in jedem Bereich der Hämatokrit bereits nach 2 Minuten Zentrifugationszeit kaum noch änderte:

Die mittlere Differenz zwischen den 2- und 6-Minutenwerten betrug $1,33 \pm 1,9$ (SD) Vol.%, zwischen den 6- und 10-Minutenwerten $0,73 \pm 1,3$ Vol.% sowie $0,48 \pm 0,6$ Vol.% zwischen den 10- und 14-Minutenwerten.

Diese Abweichungen liegen innerhalb des methodischen Fehlers, so daß in Übereinstimmung mit anderen Autoren (Sirs 1968 u. a.) eine Zentrifugationszeit von 6 Minuten als hinreichend genau betrachtet werden konnte. Dagegen forderten Schlimbach und Boroviczény (1971) eine Mindestzentrifugationszeit von 10 Minuten.

Abb. 3.2.: Zusammenhang zwischen Hämatokrit und Zentrifugationszeit, dargestellt an fünf Beispielen verschiedener Hämatokritbereiche.

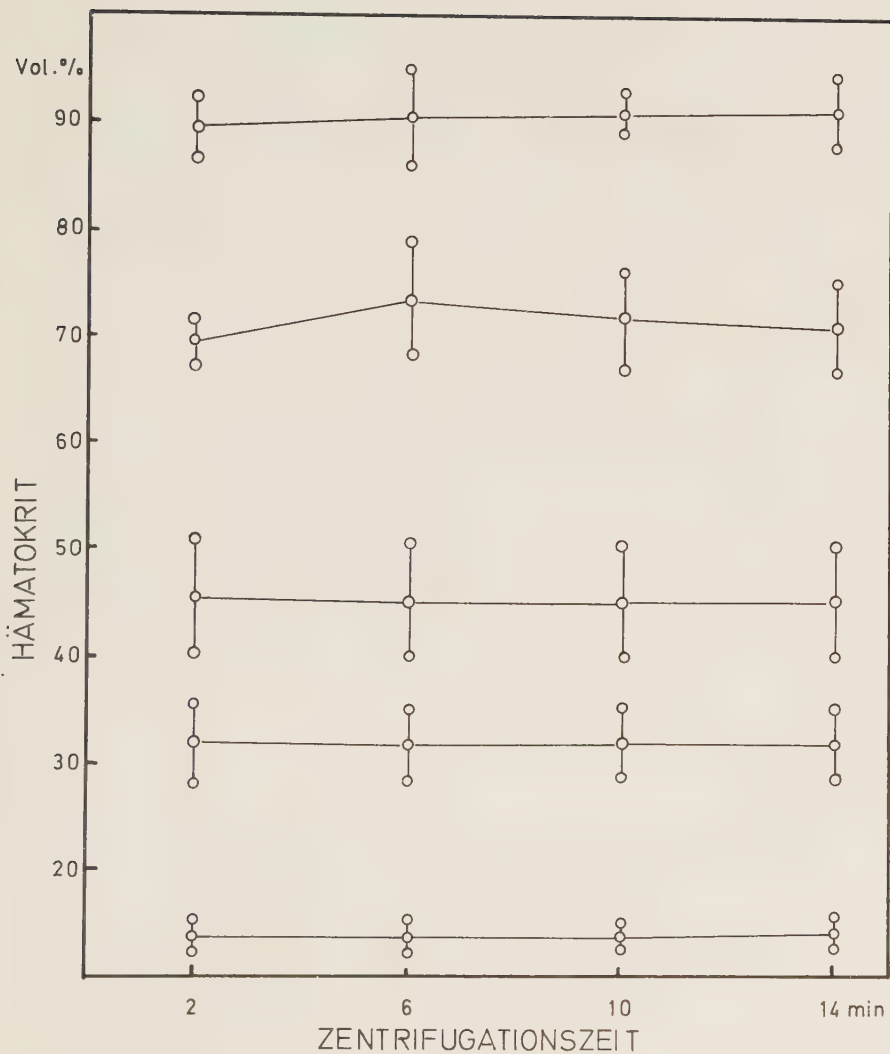


Abb. 3.2.

3.3. EINFLUSS DER LÄNGE DER BLUTSÄULE AUF DEN HÄMATOKRIT

Von jeder der 21 Blutproben (s. o.) wurden je zwei Kapillarröhrchen in einer Länge von 10, 20, 30, 40 und 50 mm aufgefüllt, 6 Minuten zentrifugiert und der Hämatokrit mit einer Schublehre abgelesen. Abb. 3.3. zeigt den Einfluß der Länge der Blutsäulen auf den abgelesenen Hämatokrit. Die Differenzen der 21 Hämatokritwerte gegenüber den jeweils geringeren Längen betrugen zwischen

20 und 10 mm	1,62 - 1,75 Vol.%
30 und 20 mm	0,39 - 0,46 Vol.%
40 und 30 mm	0,33 - 0,27 Vol.%
50 und 40 mm	0,41 - 0,35 Vol.%

Nur bei sehr niedrigen Hämatokritbereichen traten größere Schwankungen auf. Nach diesen Untersuchungen ist also die Füllung der Kapillaren bis zu einer Länge von 60 mm ohne wesentlichen Einfluß auf den abgelesenen Hämatokrit. Nach Schlimbach und Boroviczény (1971) darf die Blutsäule in der Kapillare 63 bis 64 mm lang sein, damit die Länge der Erythrozytensäule auch bei sehr hohen Hämatokritwerten (bis zu 60 Vol.%) nicht über 39 mm beträgt und somit die erforderliche Zentrifugalkraft von 12 500 g verläßlich auf die Höhe der entstehenden Erythrozytensäule wirken kann.

Abb. 3.3.: Zusammenhang zwischen Hämatokrit und Länge
(S. 15) der Blutsäule im Kapillarröhrchen, dargestellt an vier Beispielen verschiedener Hämatokritbereiche.

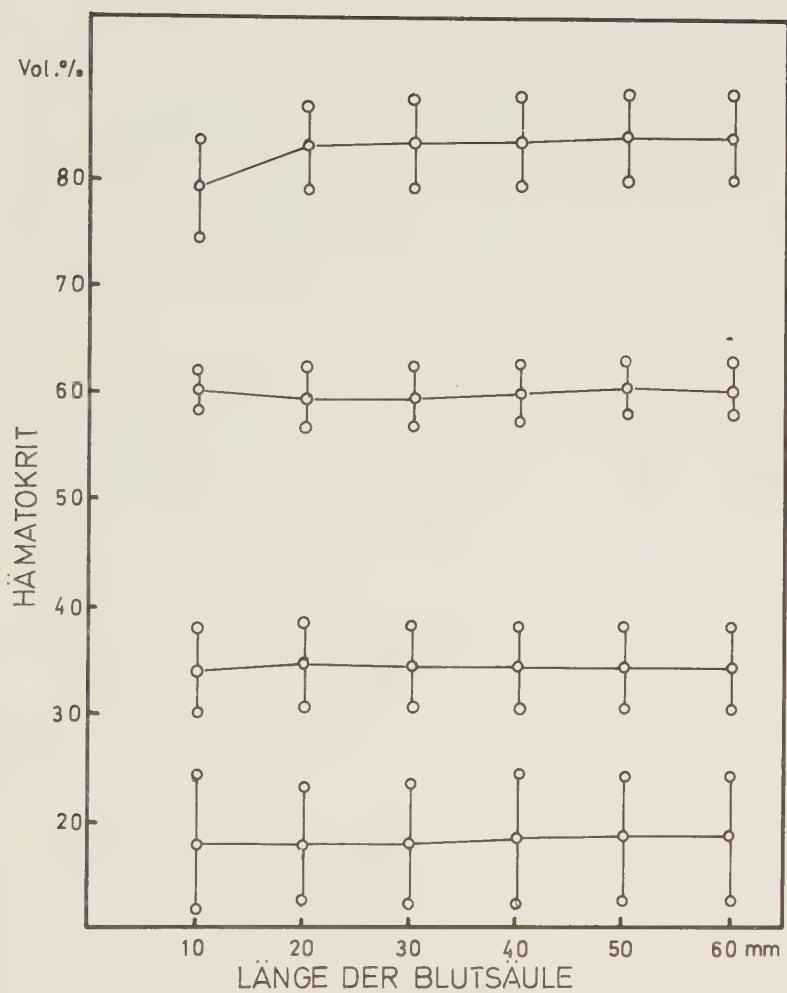


Abb. 3.3.

3.4. FEHLERQUELLEN

Fehler entstehen bei der einfachen Mikrohämatokritmethode vor allem durch ungenaues Ablesen der Länge von Blut- bzw. Erythrozytensäule und teilweise Entmischung von Erythrozyten und Plasma.

Zur Berechnung dieses methodischen Fehlers wurden Stichproben von 16 Dreifachbestimmungen mit Hämatokritwerten zwischen 16 und 60 Vol.% durchgeführt. In der Annahme, daß der mittlere Hämatokrit der drei Bestimmungen jeweils den wahren Hämatokrit der Blutprobe repräsentiert, wurden die Abweichungen der Einzelbestimmungen von diesem Mittelwert und der methodische Fehler (SD) nach folgender Formel berechnet:

$$SD = \frac{(\bar{x}_{ij} - \bar{\bar{x}}_i)^2}{n - 1}$$

i = 1 - 16 (entsprechend der 16 Blutproben)

j = 1 - 3 (entsprechend der Dreifachbestimmungen)

$$V = \frac{SD}{\bar{\bar{x}}}$$

n = 48

V = Variationskoeffizient

$\bar{\bar{x}}$ = Mittelwert der Hämatokrite von 21 Proben

Der mittlere Fehler betrug $\pm 0,48$ Vol.%, der Variationskoeffizient 1,2 %.

4. METHODEN

4.1. BLUTABNAHME UND ISOTOPENMARKIERUNG

Die Blutproben wurden bei möglichst geringer Stauung aus der Cubitalvene entnommen und frei tropfend in mit pulverisiertem EDTA-K₂ beschichteten Plastikröhrchen aufgefangen. Bis zur Verwendung wurden sie höchstens bis zu 4 Stunden im Kühlschrank aufbewahrt. Jeder Versuch wurde dreifach ausgeführt. Es wurden pro ml Blutprobe 25 μ l ¹²⁵J-Humanserumalbumin (RIHSA) zugesetzt (das entspricht einer Aktivität von 0,1 μ Ci) und gut gemischt. RIHSA ist eine stabile Verbindung, solange sie frisch verwendet wird, und impermeabel für die Erythrozytenmembran. Das natürliche Vorkommen von Albumin im Plasma ist darüber hinaus von außerordentlichem Vorteil für die Mischbarkeit (Vazquez et al. 1952).

Bei dem radioaktiv markierten Albumin handelt es sich um ein käufliches Präparat (Amersham/England) mit einer Grundaktivität von 4 μ Ci/ml und einer Proteinkonzentration von 20 mg/ml.

Die Blutproben wurden durch Luftkontakt oxygeniert, die Erythrozytengröße nimmt hierdurch ab.

4.2. MESSUNGEN MIT DEM COULTER COUNTER F_N UND PRINZIP DER ELEKTRONISCHEN ZÄHLUNG

Der Coulter Counter ist ein elektronisches Gerät zur Zählung kleinster Partikel durch Widerstandsmessungen innerhalb einer elektrisch leitenden Flüssigkeit.

Für die Messungen am Coulter Counter F_N (Coulter Electronics, Krefeld) zur Bestimmung von Erythrozytenzahl und -volumen (MCV) sowie Hämoglobinkonzentration wurden von dem unmarkierten Probelut je 20 μ l in zwei vorbereiteten Reagenzgefäßen mit je 20 ml ISOTON-Elektrolytlösung (Coulter Electronics, Krefeld) in Dreifachansätzen 1:50 000 verdünnt und die Pipette durch zweimaliges Aufziehen und Ausblasen gespült. Die Mischung wurde im Durchschnitt nicht länger als 2 - 4 Stunden bei Raumtemperatur aufbewahrt.

Die oben erwähnte Elektrolytlösung wird durch eine zwischen zwei Elektroden im Stromkreis liegende Kapillaröffnung in die Meßkapillare gesaugt (Abb. 4.2). Da Blutkörperchen im Vergleich zu der verdünnten Elektrolytlösung eine nur sehr geringe Leitfähigkeit für elektrischen Strom haben, bewirkt jede Zelle beim Durchtreten durch die kapillare Öffnung eine Widerstandserhöhung im Verhältnis zu ihrem Volumen.

Die Anzahl und Stärke dieser Impulse wird in einer Kathodenstrahlröhre vermerkt und nach Verstärkung im Oszilloskop sichtbar gemacht. Erythrozytenzahl und MCV können nacheinander durch Umschalten an einem Digitalzähler abgelesen werden.

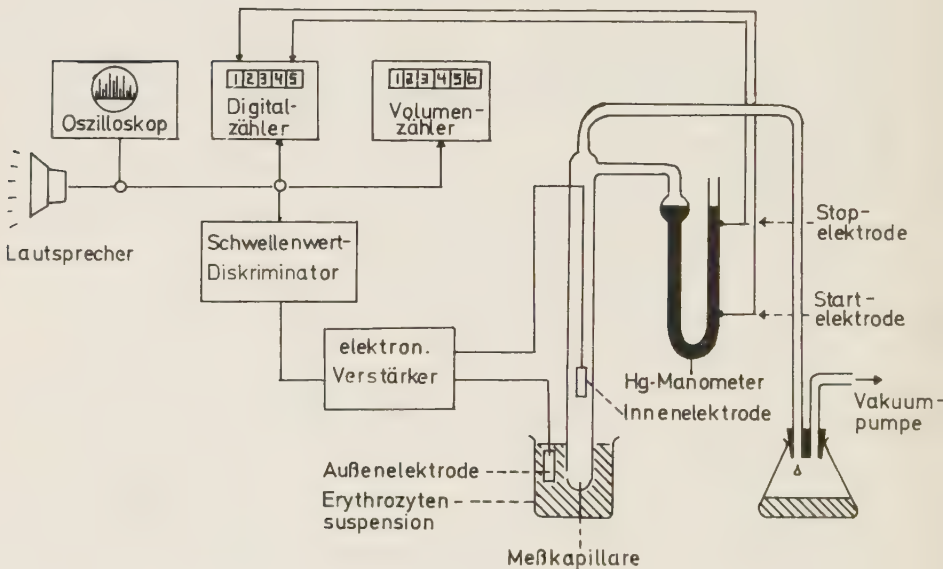


Abb. 4.2.: Schematische Darstellung der elektronischen Partikelzählung.

Mittels eines Schwellenwertdiskriminators können bei diesem Modell zu große und zu kleine Impulse unterdrückt werden, was die Auswahl der zu zählenden Partikel beeinflusst. Dies dient in erster Linie dem Ausschluß von Thrombozyten und Leukozyten bei der Bestimmung des roten Blutbildes. Um Leukozyten zu zählen, wird der Schwellenwert entsprechend erhöht.

Für die Erythrozytenzählung selbst ist dieser Schwellenwertdiskriminator (Coulter Channelyzer) insofern wichtig, als durch die untere, fixierte oder die obere, variable Schwellengrenze auch sehr kleine bzw. sehr große rote Blutkörperchen bei der Messung unberücksichtigt bleiben und dadurch das Ergebnis verfälschen können (s. a. Kap. 6.1.).

Da die Zellen außerdem nicht immer gleichmäßig die Kapillaröffnung passieren, sondern wechselnd am Rand, in der Mitte, in Längsrichtung oder quer, kommen für die einzelnen Erythrozyten unterschiedliche elektrische Felder zustande, die zur Verfälschung der MCV-Werte führen. Größte Abweichungen bewirken zwei - in hohen Konzentrationen sogar drei - Erythrozyten, die gleichzeitig durch die Kapillaröffnung gesaugt werden. Da hierbei nur ein Impuls registriert wird, ergibt dies zu hohe MCV-Werte und zu niedrige Erythrozytenzahlen.

Zur Korrektur dieses Koinzidenzfehlers liefert die Fa. Coulter eine Tabelle mit, auf der die korrigierten Werte abgelesen werden können. Der Hämatokrit wird vom Coulter Counter über integrierte Schaltungen als Produkt aus MCV und Erythrozytenzahl berechnet.

4.3. MESSUNGEN MIT DER MIKROZENTRIFUGE

Für die direkte Hämatokritbestimmung kam eine Mikrozentrifuge der Firma Hawksley Ltd., London, zur Anwendung, die bei einer Umdrehungszeit von 12 500 U/min und einem mittleren Radius von ca. 6,5 cm (gemessen vom Mittelpunkt des Zentrifugentellers bis zum Beginn der Erythrozytensäule) eine Zentrifugalkraft von 16 071 g auf die Erythrozytensäule ausübte (Berechnung nach Burck, 1970).

Gemessen wurde in geeichten Kapillarröhrchen (Fa. Brand) mit einer Länge von 75 mm und einer lichten Weite von 1,3 mm, (entsprechend der Anweisungen von Schlömbach und Boroviczény, 1971). Das zu untersuchende Blut wurde in Dreifachansätzen mittels Kapillarität aufgezogen (45 - 55 mm) und die Röhrchen am unbenetzten Ende in einer Bunsenbrennerflamme zugeschmolzen. Dabei wurde darauf geachtet, daß das verschlossene Kapillarende eine möglichst flache Kuppe bildete (Abb. 4.4.), um die durch die Ausziehung der Erythrozytensäule entstehenden Fehler zu vermeiden (Mollison 1967). Außerdem wurde das Blut vor Einfüllen in die Kapillaren vorsichtig geschüttelt, um durch gleichmäßige Oxygenierung eine einheitliche Erythrozytengröße (leicht erniedrigt) zu erhalten. Die gefüllten Kapillaren wurden 6 Minuten lang zentrifugiert. Die verwendete Zentrifuge lief ohne Bremsung aus. Mit Hilfe einer Schublehre (Mitutoyo/Japan) wurden die Längen von Erythrozyten- und Blutsäule abgelesen und der Hämatokrit als Quotient der beiden Längen berechnet. Dieser Wert ging als sogenannter unkorrigierter = beobachteter Hämatokrit in das Protokoll ein.

Nach den Vorschriften des "International Committee für Standardization in Haematology" (Boroviczény 1966), wurde die weiße Zellschicht zum Plasmakrit und nicht zum Hämatokrit (genauer: Erythrokrit) gerechnet.

Die Temperatur während der Zentrifugation hat keinen Einfluß auf den Hämatokrit (Murphy 1967).

4.4. MODIFIZIERUNG DES MIKROHÄMATOKRITS MIT PHTHALSÄUREESTERN

Phthalsäure ist eine zweibasige organische Säure ($C_6H_4(COOH)_2$), die technisch durch katalytische Oxydation von Naphthalin mit Luftsauerstoff hergestellt wird.

Phthalsäureester wirken stark hydrophob, so daß sich weder Plasma noch Erythrozyten mit ihnen mischen. Durch Mischung von Phthalsäuredibutylester ($C_{16}H_{22}O_4$, Dichte bei 20° C 1,046) und Phthalsäuredimethylester ($C_{10}H_{10}O_4$, Dichte bei 20° C 1,190; Fa. Schuchardt, Hohenbrunn) lassen sich Verhältnisse jeder gewünschten Dichte herstellen von 1,046 bis 1,190. Wird eine Mischung gewählt, deren Dichte zwischen der von Plasma (1,025 - 1,029) und Leukozyten (1,070 - 1,080) einerseits und Erythrozyten (1,090 - 1,100) andererseits liegt, so lassen sich die Erythrozyten von den übrigen Blutbestandteilen abtrennen (Danon u. Marikovsky 1964). Hierzu wurde die Hämatokritkapillare zu etwa 5 mm mit Phthalsäureester und anschließend zu etwa 50 mm mit Blut gefüllt. Das freie Ende der Kapillare wurde zugeschmolzen und das Blut in üblicher Weise zentrifugiert. Bei richtiger Wahl des Mischungsverhältnisses der beiden Phthalsäureester fanden sich die Erythrozyten peripher, der "buffy coat" und das Plasma zentral der Phthalsäure (Abb. 4.4.).

Das Phthalsäureestergemisch von einer Dichte von 1,086 erwies sich zur Trennung als am besten geeignet. Gelegentlich wurde zentral des Phthalsäureesters ein schmaler Erythrozytensaum beobachtet. In diesem Fall wurde die Untersuchung mit einem Gemisch mit einer Dichte von 1,082 oder falls notwendig geringer wiederholt, bis alle Erythrozyten peripher lagen.

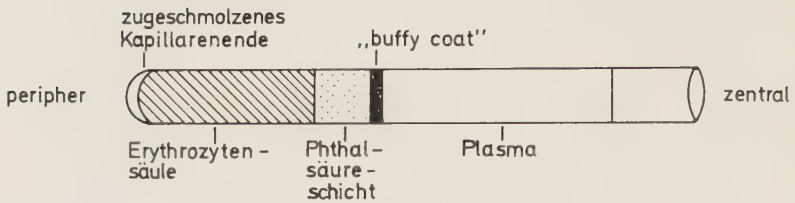


Abb. 4.4.: Mikrohämatokritkapillare unter Anwendung von Phthalsäureestern

Dieses Verfahren besitzt gegenüber der üblichen Methode zwei Vorteile:

1. Die Erythrozytensäule läßt sich genauer ablesen
2. Es sollen sich keine Plasmareste ("trapped plasma") mehr zwischen den Erythrozyten befinden (Danon u. Malikovsky 1964)

Die Angaben für die Dichte wurden den wissenschaftlichen Tabellen der "documenta Geigy" entnommen.

4.5. BESTIMMUNG DES "TRAPPED PLASMA"

Daß es aufgrund von Form und Membraneigenschaften der roten Blutkörperchen unmöglich sei, auch bei noch so großer Zentrifugalkraft einen Hämatokritwert zu erhalten, bei dem die Erythrozytensäule völlig frei von Plasma wird, ist seit Einführung des Hämatokrits durch Hedin (1891) bekannt. Seitdem sind zahlreiche Untersuchungen zur Eliminierung dieses eingeschlossenen Plasmaanteils (engl.: trapped plasma = TP) bzw. der Korrektur des Hämatokrits um diesen Anteil angestellt worden (Chaplin, Molli-son und Vetter 1953, England und Down 1975 u. a., s. a. Tab. 6.2.1.). Die gebräuchlichste Methode ist im Folgenden beschrieben, modifi-ziert nach dem Prinzip von England und Down (1975), die je-doch Wintrobe-Tubes benutzten.

Jeder Blutprobe wurde pro ml 25 µl $^{125}\text{Jod-HSA}$ zugesetzt und sorgfältig gemischt.

Wie in Abschnitt 4.3. und 4.4. beschrieben wurde von jeder die-ser radioaktiv markierten Blutproben der Mikrozentrifugenhäma-tokrit mit und ohne Phthalsäure bestimmt. Sodann wurden die Glaskapillaren vorsichtig mit einer Ampullensäge knapp unter-halb der Grenze Erythrozyten/Plasma + "buffy coat" bzw. Erythro-zyten/Phthalsäure durchtrennt. Auf eine sorgfältige Entfernung des "buffy coat" wurde geachtet, da in diesem 60 % des "trapped plasma" enthalten sein sollen (Hlad u. Holmes 1953). An den er-haltenen Abschnitten wurden erneut die Längen von Erythrozyten und Plasma gemessen und in Eppendorff-Röhrchen zusammen mit einem Röhrchen unmarkierter Kochsalzlösung (Leerwert) die Radioaktivität im Szintillationszähler (Fa. Friesecke und Hoepfner GmbH) bestimmt.

Nach Abzug des Leerwertes erhielt man

x Impulse/min/mm Erythrozytensäule

y Impulse/min/mm Plasmasäule.

Das "trapped plasma" errechnete sich dann aus folgender Gleichung:

$$\text{TP (\%)} = \frac{x}{y} \cdot 100$$

Um dieses "trapped plasma" wäre der mit den oben beschriebenen Methoden erhaltene Hämatokrit durch Multiplikation mit dem Faktor (f) zu korrigieren:

$$f = \frac{100 - \text{TP}}{100} \quad \text{also: } \text{Hkt}_{\text{kor}} = \text{Hkt}_{\text{unkorr}} \cdot \frac{100 - \text{TP}}{100}$$

4.6. RADIOJODMETHODE

Um die zwangsläufige Verfälschung des mit der Mikrozentrifuge bestimmten Hämatokritwertes durch das in der Erythrozytensäule eingeschlossene Plasma zu umgehen, entwickelten England und Mollison (1975) eine Verdünnungsmethode zur Bestimmung des Hämatokrits der Erythrozyten.

In Anlehnung an diese Technik wurde diese sog. Radiojodmethode durchgeführt.

Dazu wurden 2 ml EDTA-K₂-Blut mit 50 µl ¹²⁵J-HSA markiert. Die Radioaktivität von je 100 µl Blut, Plasma und physiologische Kochsalzlösung (Leerwert) wurde im Szintillationsbohrloch-Zähler (s. o.) gemessen und der radioaktive Hämatokrit wie folgt berechnet:

$$x = \text{Impulszahl}/\mu\text{l Blut}/5 \text{ min}$$

$$y = \text{Impulszahl}/\mu\text{l Plasma}/5 \text{ min},$$

beides nach Subtraktion der Hintergrundsaktivität.

Da 1 µl Vollblut (1 · Hkt/100) µl Plasma enthält, ergibt sich folgender Zusammenhang:

$$y (1 - \text{Hkt}/100) = x$$

und durch geeignete Umrechnung:

$$\text{Hkt} (\%) = \frac{y - x}{y}.$$

Dieser Wert gibt den Anteil der Erythrozyten am Vollblut wieder, in dem kein Plasma mehr eingeschlossen ist. Der Fehler der Szintillationszählung betrug 0,4 %.

4.7. VISKOSITÄTSMESSUNG

Die Bestimmungen der Viskosität wurden mit einem Kegel-Platten-Viskosimeter nach Wells und Brookfield ausgeführt, gemessen als Verhältnis von Scherkraft (T) und Scherrate ($\dot{\gamma}$).

Das Prinzip dieser Messung besteht darin, daß Flüssigkeit zwischen zwei gegeneinander rotierenden, parallelen Platten um so stärker geschert wird, je höher die Umdrehungszahl und je weiter der Abstand von der Rotationsachse ist. Vergrößert man den Abstand der Platten von der Rotationsachse zur Peripherie kontinuierlich, indem man die eine Platte durch einen flachen Kegel ersetzt, läßt sich die sonst vorhandene Zunahme der Scherrate mit der Entfernung vom Zentrum ausgleichen. Die Scherrate hängt dann allein von der Umdrehungszahl des Kegels ab, bei festgelegter Scherrate wird die Scherkraft von der Viskosität bestimmt.

Während die Scherkraft Ausdruck der Summe von Drehmomenten über der konischen Oberfläche ist, wird die Scherrate abgeleitet von der Winkelgeschwindigkeit und der Fugenweite zwischen den geschliffenen Flächen.

Allgemein wird die Viskosität nach folgender Formel berechnet (Wells et al. 1961):

$$\eta = \frac{T \cdot 100 \cdot \sin \theta}{2/3 \omega \cdot r^3}, \quad \text{wobei}$$

η = Viskosität (cP)

r = Radius des Viskosimeterkonus (cm)

ω = Winkelgeschwindigkeit (U/sec)

θ = Winkelgrad der Konusneigung ($^{\circ}$)

T = % des Drehmomentmaximums (dyn·cm)

Die Blutproben wurden einheitlich durch Mischen von Erythrozytenkonzentrat mit Humanalbumin in Ringerlösung auf einen Hämatokrit von 60 Vol.% eingestellt. Die am Viskosimeter abgelesenen Skalenteile wurden mit dem festgelegten Faktor f multipliziert.

4.8. STATISTISCHE BERECHNUNGEN

Die statistischen Analysen wurden mit Hilfe des Statistischen Lehrbuches von Sachs (1969) und den Wissenschaftlichen Tabellen der "documenta Geigy" durchgeführt.

Berechnet wurden die Mittelwerte und Standardabweichungen der Mittelwerte ($SD_{\bar{x}}$), die Standardabweichungen der Ergebnisse, gruppiert nach Größe der Erythrozyten, sowie die mittleren Differenzen und Standardabweichungen der verschiedenen Methoden.

Außerdem wurden die Regressionsgeraden nach dem Prinzip der kleinsten Quadrate bestimmt.

5. ERGEBNISSE

Wie bereits in der Einleitung erwähnt, liegt dieser Arbeit die Aufgabe zugrunde, durch vergleichende Hämatokritbestimmungen zu prüfen, inwieweit das im Routinelabor hauptsächlich verwendete elektronische Zählgerät Coulter Counter für die Bestimmung des Hämatokrits zuverlässig ist. Letzterer wird in dem Gerät als Summation der elektronisch gemessenen Erythrozyten-Einzelvolumina ermittelt. Gleichzeitig war zu überprüfen, inwieweit das mittlere Erythrozyten-Einzelvolumen (MCV), ermittelt aus konventionellem Hämatokrit und Erythrozytenzahl, von dem im Coulter Counter bestimmten Wert differiert.

Eine Übersicht über die Mittelwerte aller Untersuchungsergebnisse zeigt Tabelle 8.3. (S. 82), getrennt berechnet für Normo-, Makro- und Mikrozyten. Die berechneten Regressionsgeraden sind in Tabelle 8.2. (S. 81) aufgeführt.

Im Folgenden werden die verschiedenen Methoden einander gegenübergestellt, wobei die elektronische Zählmethode jeweils mit der konventionellen Methode bzw. deren Modifikation verglichen wird.

5.1. HÄMATOKRIT

Wie aus Tabelle 8.3. ersichtlich, ergaben die unter Abschnitt 4 besprochenen Versuche für jeden der 107 Probanden je 6 Werte für den Hämatokrit bzw. das "packed cell volume" (PCV) der Radiojodmethode.

Die Wertepaare von je zwei dieser Untersuchungstechniken wurden einzeln verglichen und graphisch dargestellt. Normo-, Makro- und Mikrozyten wurden in den Abbildungen zur Überprüfung ihres Verhaltens innerhalb des Gesamtkollektives unterschiedlich markiert. Jeder Punkt des Diagramms stellt ein Wertepaar dar. Je näher diese Punkte an der eingezeichneten Identitätslinie liegen, desto geringer ist die Differenz des zugrunde liegenden Wertepaares. Somit steht die Abweichung eines Punktes von dieser Geraden in direktem Verhältnis zu der Differenz zwischen den beiden Werten, die er repräsentiert.

5.1.1. VERGLEICH DER HÄMATOKRITWERTE DES COULTER COUNTERS MIT DENEN DER MIKROHÄMATOKRITMETHODE (UNKORRIGIERT)

Abb. 5.1.1. zeigt die Beziehung der Ergebnisse beider Methoden bei einem Mittelwert der x-Werte (Mikrozentrifuge) von $36,74 \pm 9,59$ Vol.% und der y-Werte (Coulter Counter) von $36,57 \pm 8,69$ Vol.%. Die Korrelation ist hochsignifikant ($r = 0,92$).

Die mittleren Differenzen (Coulterhämatokrit - Zentrifugenhämatokrit) und Streuungen betrugen:

Normozyten	-	$0,24 \pm 3,2$ Vol.%
Makrozyten		$0,35 \pm 4,5$ Vol.%
Mikrozyten		$0,25 \pm 4,4$ Vol.%.

Damit waren die mittleren Abweichungen des Hämatokrits bei der Methoden, unabhängig von der Erythrozytengröße, gering und nicht signifikant. Die Streuung war bei Makro- und Mikrozyten wesentlich größer (ca. 30 %) als bei den Normozyten. Es fiel jedoch auf, daß auch unter den normozytären Wertepaaren mitunter größere Differenzen entstanden, was in Abb. 5.1.1. an den "Ausreißern" deutlich zu sehen ist.

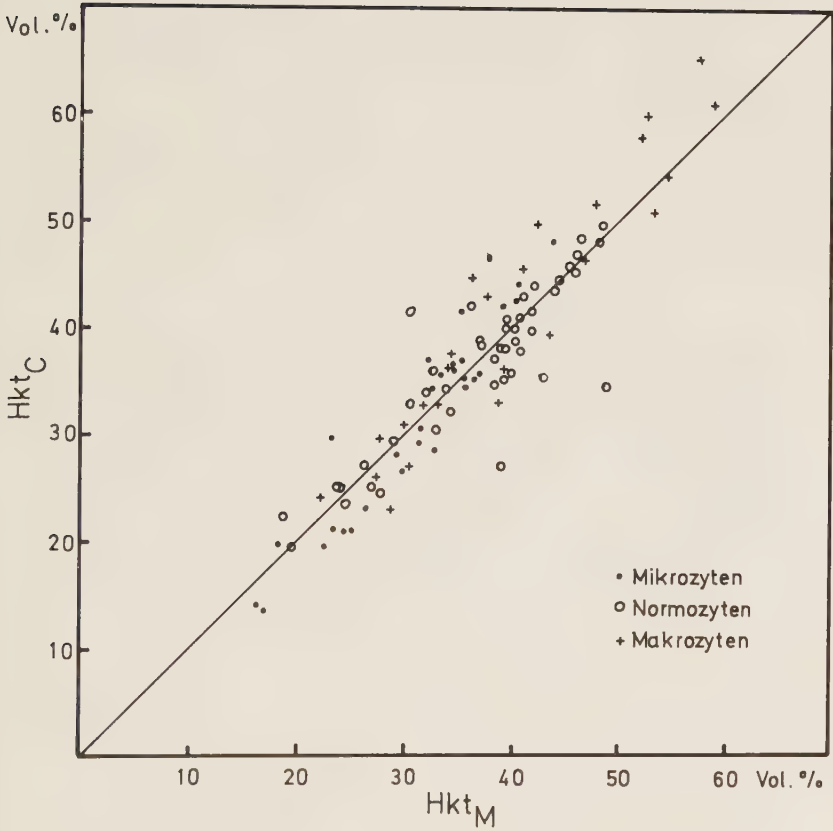


Abb. 5.1.1.: Hämatokritwerte des Coulter Counters (Hkt_C)
verglichen mit denen der konventionellen
Methode der Mikrozentrifuge (Hkt_M) anhand
einer Identitätsgeraden

5.1.2. VERGLEICH DER HÄMATOKRITWERTE DES COULTER COUNTERS MIT DENEN DER MIKROHÄMATOKRITMETHODE (KORRIGIERT)

Dieser Vergleich (Abb. 5.1.2.) zeigt eine sehr ähnliche Beziehung der Werte wie in Abschnitt 5.1.1. Der Mittelwert der Coulterwerte (Ordinate) betrug wiederum $36,57 \pm 8,69$ Vol.%, der der Zentrifugenwerte, korrigiert um das "trapped plasma", $36,01 \pm 8,16$ Vol.%. Die Korrelation ist ebenfalls hochsignifikant.

Die mittleren Differenzen (Coulterhämatokrit - korrigierter Zentrifugenhämatokrit) und die Streuungen betragen:

Normozyten	$0,75 \pm 3,10$ Vol.%
Makrozyten	$1,27 \pm 4,53$ Vol.%
Mikrozyten	$1,49 \pm 3,95$ Vol.%

Die mittleren Abweichungen nehmen damit nach Korrektur des Mikrohämatokrits um die Menge des "trapped plasma" um ca. $0,5 \pm 1,3$ Vol.% zu. Sie ist auch hier bei den Makro- und Mikrozyten wesentlich größer (um 31 bzw. 22 %) als bei den Normozyten, welche nur bei einem einzigen Wertepaar eine ungewöhnlich große Differenz zeigten.

Die Streuungen unterscheiden sich kaum von denen der Differenzen zwischen Coulter Counter und unkorrigierter Mikrohämatokritmethode. Die Berücksichtigung des "trapped plasma" verbessert also keineswegs die Übereinstimmung der beiden Methoden.

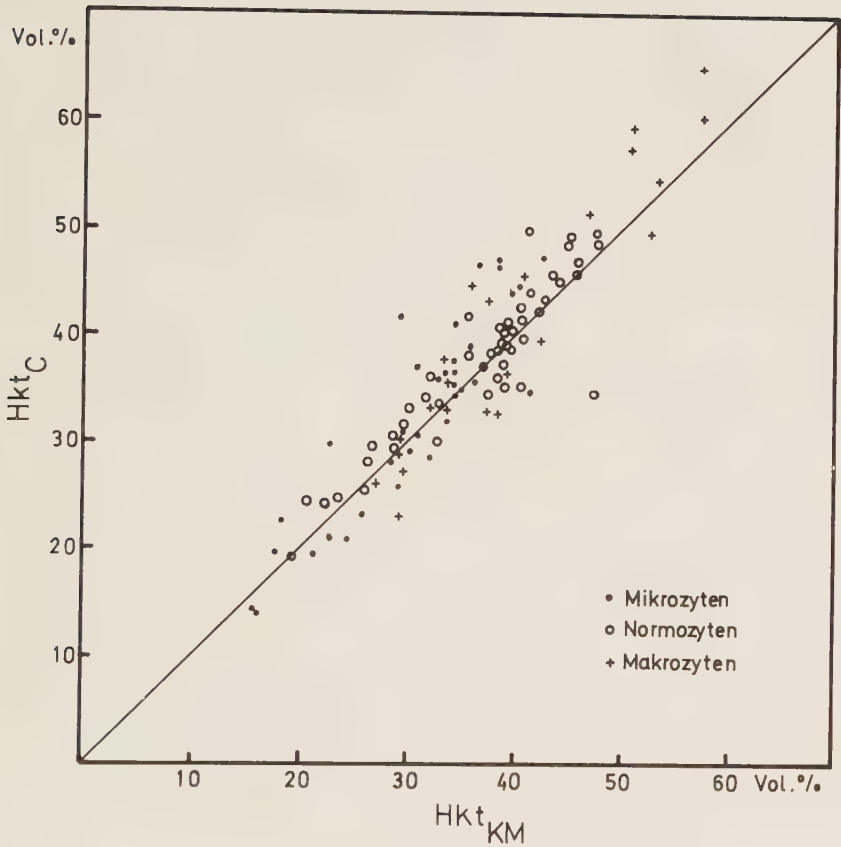


Abb. 5.1.2.: Hämatokritwerte des Coulter Counters (Hkt_C)
verglichen mit den um das "trapped plasma"
korrigierten Werten der Mikromethode (Hkt_{KM})
anhand der Identitätsgeraden

5.1.3. DIFFERENZ ZWISCHEN COULTERHÄMATOKRIT UND ZENTRI-
FUGENHÄMATOKRIT (KORRIGIERT) IN BEZIEHUNG ZUM
"TRAPPED PLASMA"

Mit dieser Gegenüberstellung (Abb. 5.1.3.) sollte nachge-
wiesen werden, daß die Abweichungen zwischen den genann-
ten Methoden

1. unabhängig von der Höhe des "trapped plasma" sind und
2. auch nach Korrektur des Mikrohämatokrits um das
"trapped plasma" fortbestehen (s. a. Abb. 5.1.2.).

Die Mittelwerte und Streuungen für das "trapped plasma"
sowie die Differenzen betrugen:

	"trapped plasma"	$Hkt_C - Hkt_{KM}$
Normozyten	$2,5 \pm 0,6 \%$	$0,75 \pm 3,10 \text{ Vol.}\%$
Makrozyten	$2,3 \pm 0,4 \%$	$1,27 \pm 4,53 \text{ Vol.}\%$
Mikrozyten	$3,0 \pm 0,7 \%$	$1,49 \pm 3,95 \text{ Vol.}\%$

Es ergab sich keine Korrelation für diese Beziehung.

Die letzten beiden Abschnitte haben gezeigt, daß die Dif-
ferenzen der Hämatokritwerte, die mit dem Coulter Counter
und der Mikrozentrifuge ermittelt wurden, unabhängig vom
"trapped plasma" sind. Diesen Sachverhalt soll Abb. 5.1.3.
weiter verdeutlichen, indem die Differenzen der Coulter-
und unkorrigierten Mikrohämatokritwerte gegen das "trapped
plasma" aufgetragen wurden. Die Gegenüberstellung der
Hämatokritdifferenzen und des "trapped plasma" verschie-
dener Erythrozytengrößen zeigt, daß das MCV zwar einen
gewissen Einfluß auf das "trapped plasma", nicht aber auf
die Hämatokritdifferenzen ausübt.

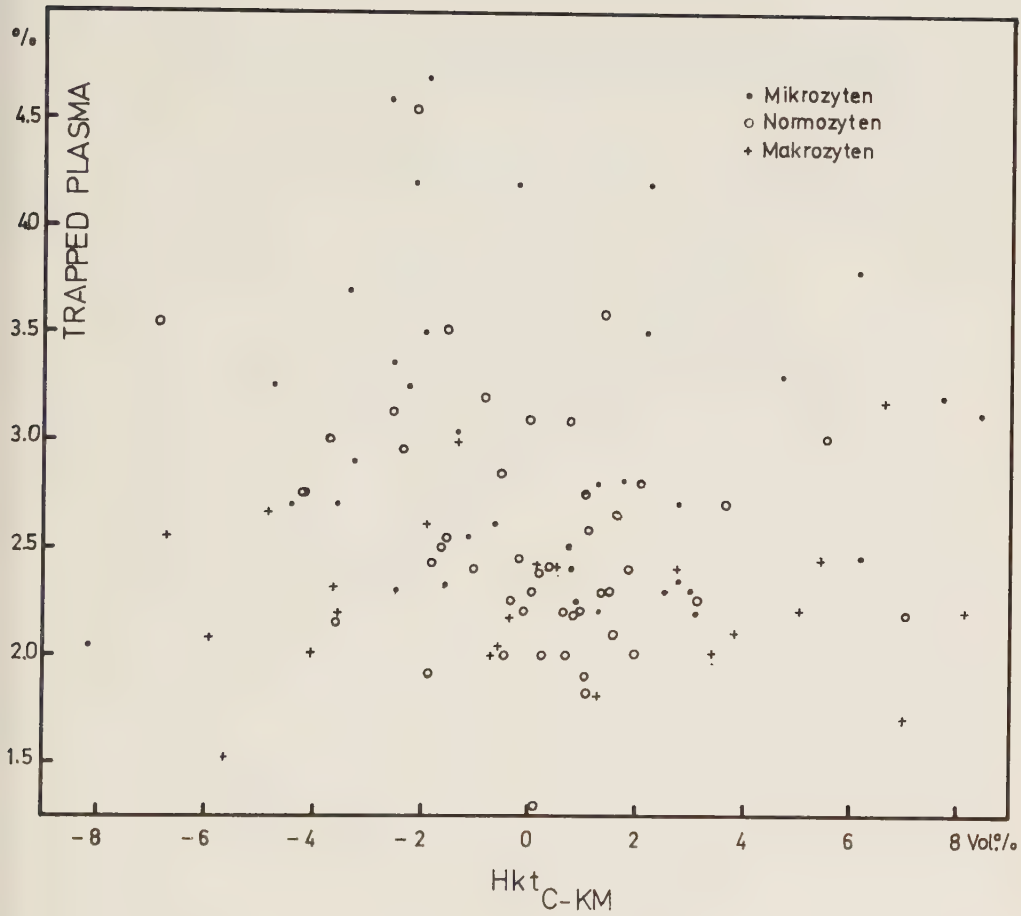


Abb. 5.1.3.: Beziehung zwischen der Differenz Coulter-Hämatokrit - Mikrozentrifugen-Hämatokrit ($Hkt_C - Hkt_{KM}$) und dem "trapped plasma"

5.1.4. VERGLEICH DER HÄMATOKRITWERTE DES COULTER COUNTERS MIT DENEN DER RADIOJODMETHODE

Die graphische Darstellung (Abb. 5.1.4.) zeigt, daß bei diesem Vergleich die Coulterwerte der Mikrozyten unter, die der Normozyten über denen der Radiojodmethoden lagen.

Die mittleren Differenzen (Coulter-Counter-Methode - Radiojodmethode) und Streuungen betrugen

Normozyten	1,97 - 4,21 Vol.%
Makrozyten	0,44 - 3,57 Vol.%
Mikrozyten	-1,98 - 4,16 Vol.%.

Mikro-, Normo- und Makrozyten zeigten eine ähnliche Streuung.

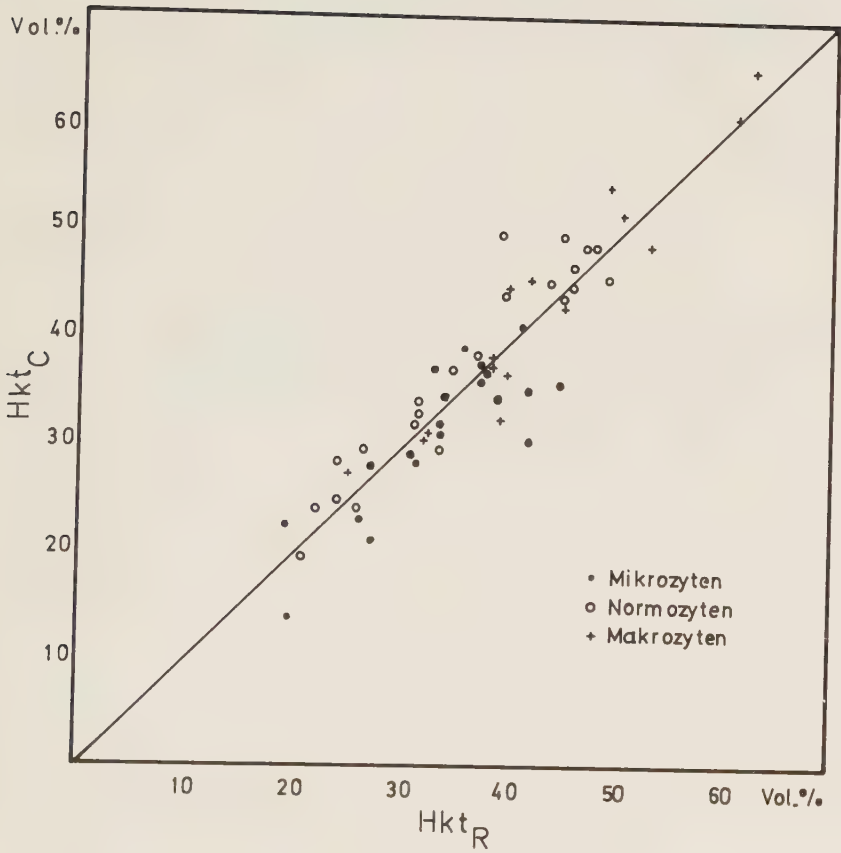


Abb. 5.1.4.: Hämatokritwerte des Coulter Counters (Hkt_C)
verglichen mit dem radioaktiven Hämatokrit
(Hkt_R) anhand einer Identitätsgeraden

5.1.5. RECHENFEHLER DES COULTER COUNTERS

Hierzu wurden die vom Coulter Counter elektronisch gemessenen Werte von Erythrozytenzahlen und Erythrozytenvolumen mittels Rechenmaschine multipliziert und das Produkt mit den vom Coulter Counter angegebenen Werten für den Hämatokrit verglichen (Abb. 5.1.5.).

Dabei ergaben sich folgende mittlere Differenzen und Streuungen:

Normozyten	$0,19 \pm 1,61 \text{ Vol.}\%$
Makrozyten	$0,24 \pm 1,16 \text{ Vol.}\%$
Mikrozyten	$0,32 \pm 0,82 \text{ Vol.}\%$

Der Fehler, ausgedrückt als mittlere Differenz zwischen dem vom Coulter Counter und dem mit der Rechenmaschine errechneten Hämatokrit, war bei den Normozyten am geringsten, während die Streuung hier am größten war. Der Zählapparat "verrechnet" sich im Mittel um 0,5 % des "wahren" Hämatokrits!

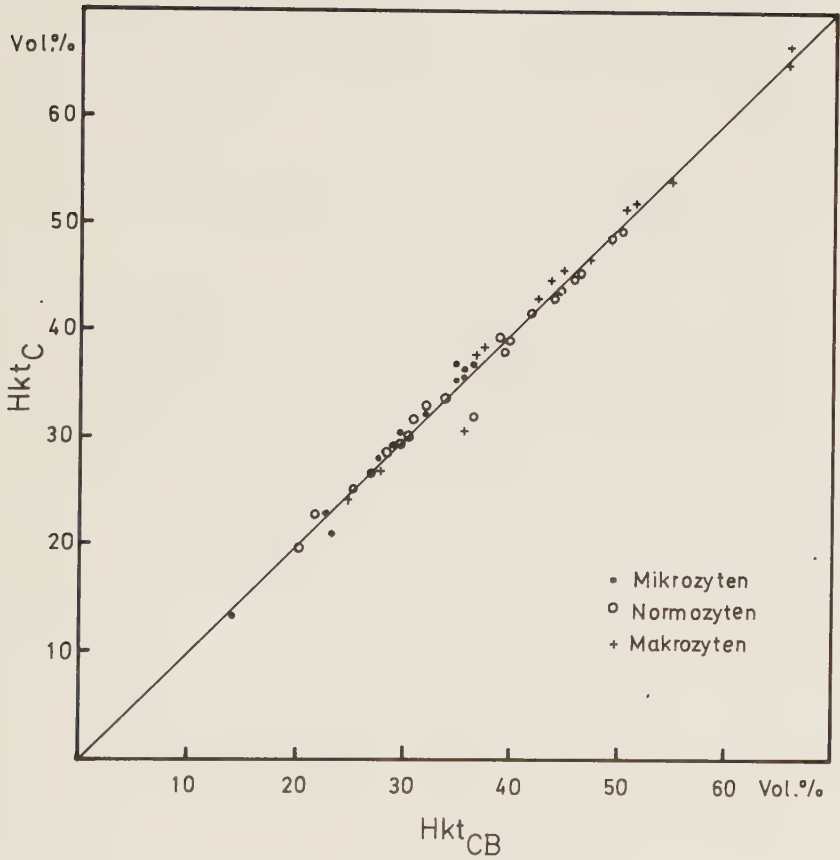


Abb. 5.1.5.: Vergleich der von der Digitalanzeige des Gerätes abgelesenen Hämatokritwerte (Hkt_C) mit den aus MCV und Erythrozytenanzahl nachgerechneten Werten (Hkt_{CB}) = "Rechenfehler" des Coulter Counters

5.2. MITTLERES KORPUSKULÄRES VOLUMEN (MCV)

Ebenso wie der Hämatokrit wurde das MCV mit 6 verschiedenen Methoden untersucht und die Ergebnisse miteinander verglichen.

Als Maß der methodischen Abweichungen wurde die mittlere Differenz der Einzelwerte sowie deren Streuung gewählt und als Maß für den Grad der linearen Abhängigkeit der Korrelationskoeffizient berechnet (Tabelle 8.2.).

5.2.1. VERGLEICH DER MCV-WERTE DES COULTER COUNTERS MIT DENEN DER MIKROZENTRIFUGENMETHODE (UNKORRIGIERT)

In Abb. 5.2.1. sind die 107 elektronisch bestimmten MCV-Werte des Coulter Counters gegen die Werte der einfachen Zentrifugationsmethode aufgetragen und die Identifikationsgerade eingezeichnet. Dabei lagen die durch Zentrifugation erhaltenen Ergebnisse durchschnittlich um 0,4 fl unter denen des Zählgerätes, mit einer z. T. erheblichen Streuung. Es zeigte sich jedoch, daß die Differenzen der Wertepaare in Abhängigkeit vom Erythrozytenvolumen streuten:

Die größte Streuung wurde bei den Zellen oberhalb, die geringste innerhalb der Normgrenzen festgestellt. Die Streuung der Mikrozyten lag nur wenig über der von Normozyten:

Normozyten	$0,35 \pm 8,66 \text{ fl}$
Makrozyten	$2,94 \pm 12,41 \text{ fl}$
Mikrozyten	$2,74 \pm 8,96 \text{ fl.}$

Der Korrelationskoeffizient betrug 0,78 und war damit signifikant.

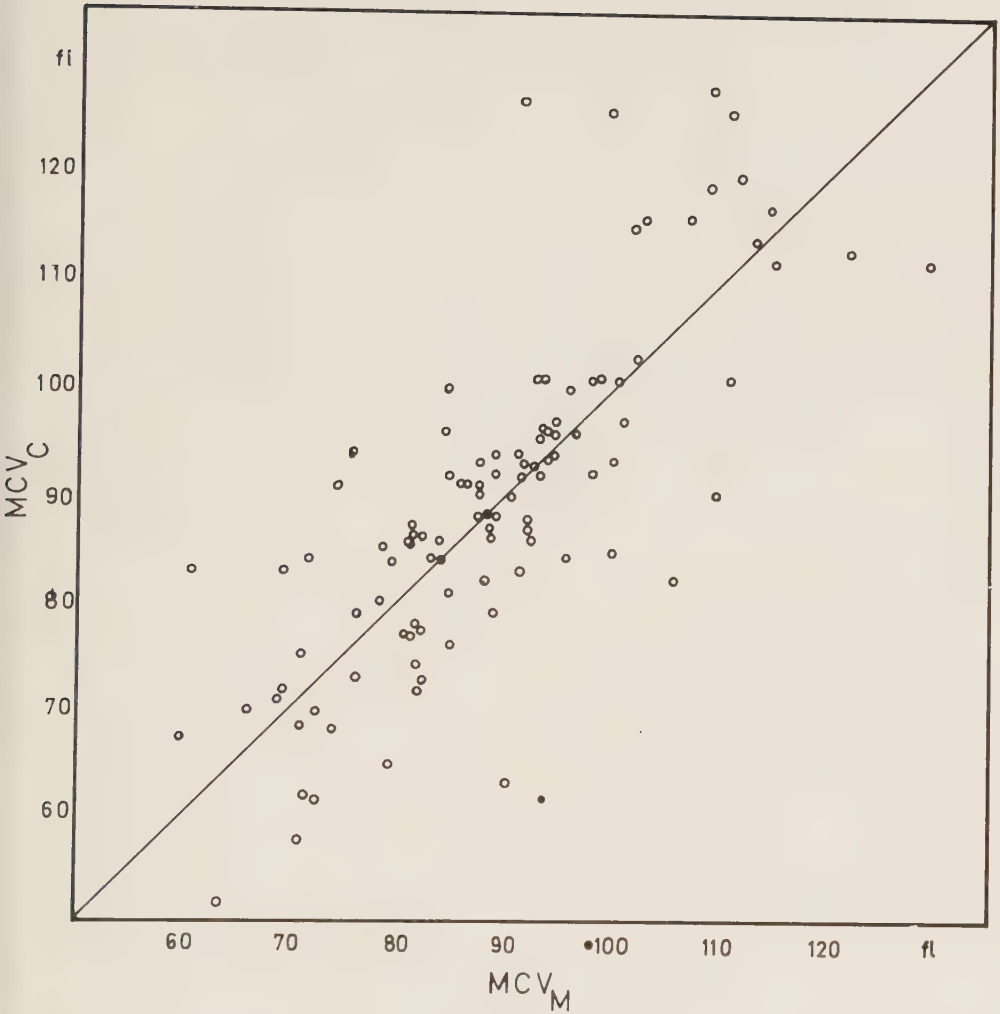


Abb. 5.2.1.: MCV_C -Werte des Coulter Counters (MCV_C),
verglichen mit denen, die durch Division
des Mikrozentrifugenhämatokrits durch
die Erythrozytenzahl (Counter) (MCV_M)
berechnet wurden.

5.2.2. VERGLEICH DER MCV-WERTE DES COULTER COUNTERS MIT DENEN DER MIKROZENTRIFUGENMETHODE (KORRIGIERT)

Folgende mittlere Differenzen und Streuungen wurden ermittelt (Abb. 5.2.2.):

Normozyten	$2,89 \pm 8,87$ fl
Makrozyten	$2,94 \pm 12,41$ fl
Mikrozyten	$2,74 \pm 8,69$ fl.

Die mittleren Differenzen der beiden Methoden waren also größer als die zwischen den Ergebnissen des Coulter Counters und der unkorrigierten Mikromethode.

Der Korrelationskoeffizient betrug ebenfalls 0,78.

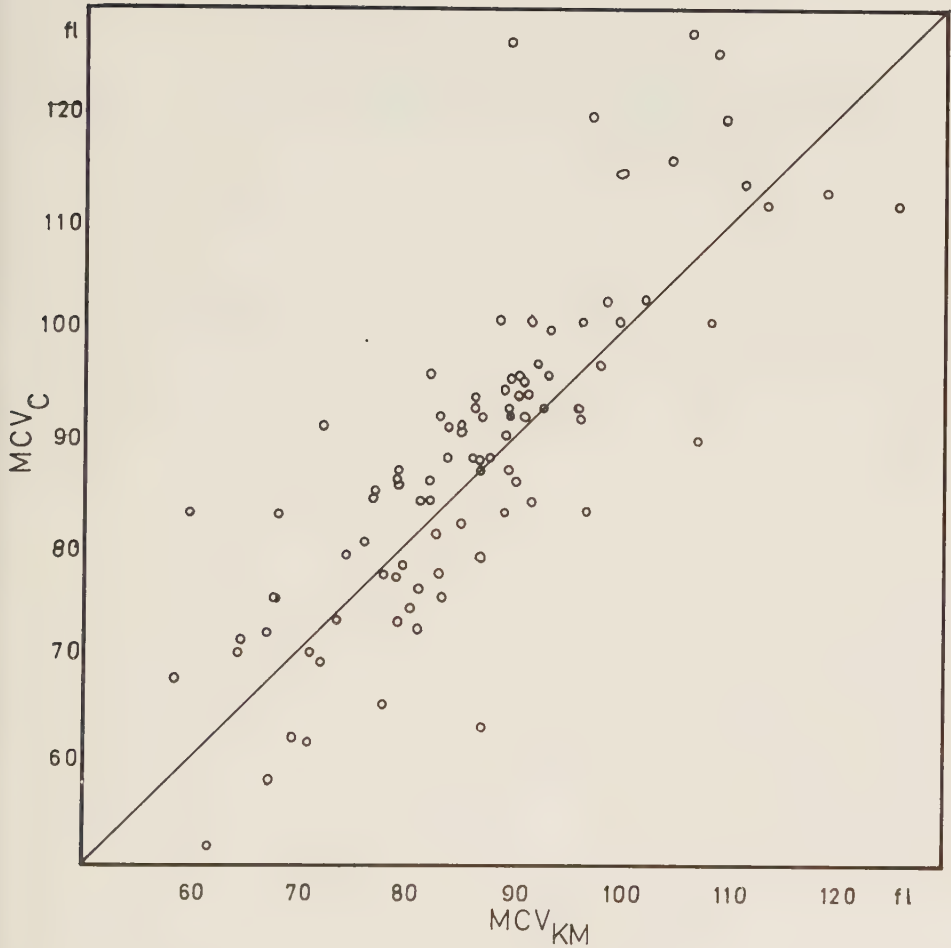


Abb. 5.2.2.: MCV-Werte des Coulter Counters (MCV_C),
verglichen mit den korrigierten Werten
der Mikrozentrifugenmethode.

5.2.3. VERGLEICH DER MCV-WERTE DES COULTER COUNTERS MIT DENEN DER PHTHALSÄUREMETHODE (UNKORRIGIERT)

Abb. 5.2.3. zeigt wiederum eine ähnliche Streuung wie bei den vorangehenden Versuchen, es wurden jedoch noch größere mittlere Differenzen berechnet:

Normozyten	4,66 - 8,26 fl
Makrozyten	3,16 - 11,47 fl
Mikrozyten	2,75 - 8,72 fl.

Die Korrelation ist bei diesem Vergleich ebenfalls geringer ($r = 0,73$).

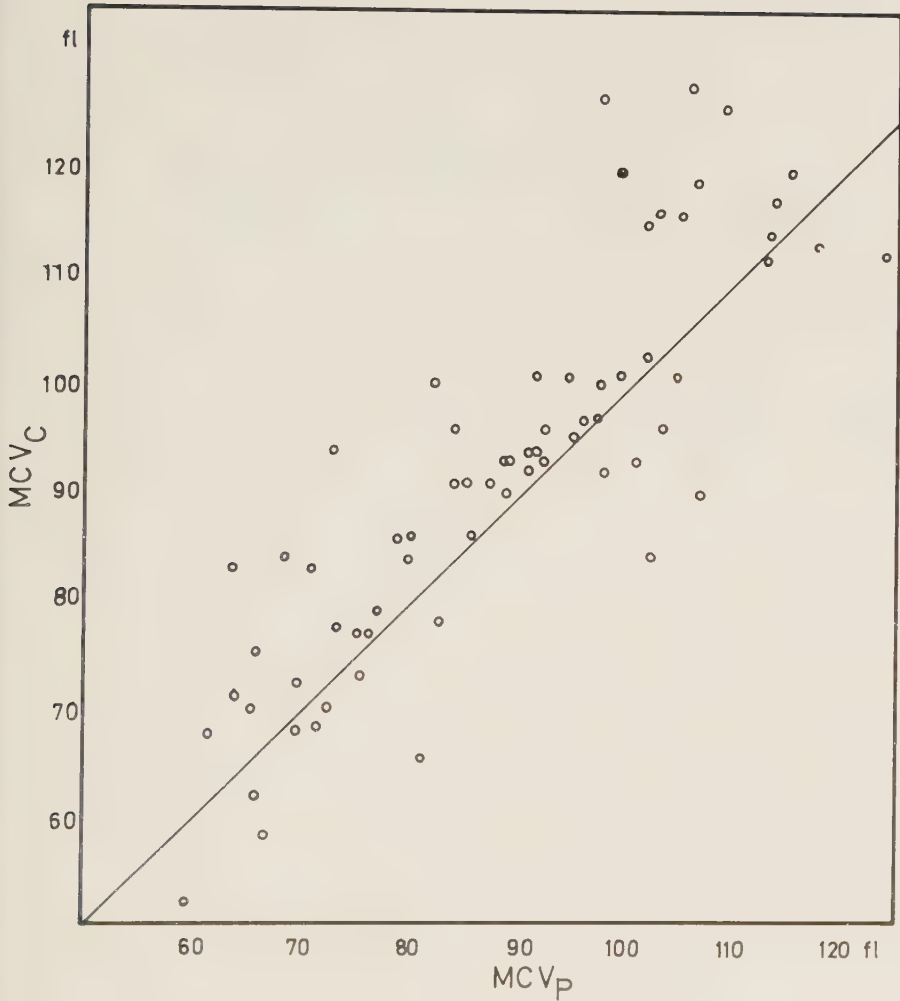


Abb. 5.2.3.: MCV -Werte des Coulter Counters (MCV_C),
verglichen mit den Werten, die aus der
Berechnung von Phthalsäure-Mikrohämato-
krit, unkorrigiert, und Erythrozytenzahl
(Counter) (MCV_P) stammen.

5.2.4. VERGLEICH DER MCV-WERTE DES COULTER COUNTERS
MIT DENEN DER PHTHALSÄUREMETHODE (KORRIGIERT)

Die Werte differierten beim Vergleich dieser Methoden (Abb. 5.2.4.) um ca. 2 fl pro Wertepaar stärker als beim Versuch mit unkorrigierter Phthalsäure. Die Streuung war jedoch trotz Korrektur um das "trapped plasma" unverändert:

Normozyten	6,68 - 8,26 fl
Makrozyten	5,44 - 11,40 fl
Mikrozyten	4,76 - 8,77 fl.

Die Korrelation war auch hier signifikant ($r = 0,73$).

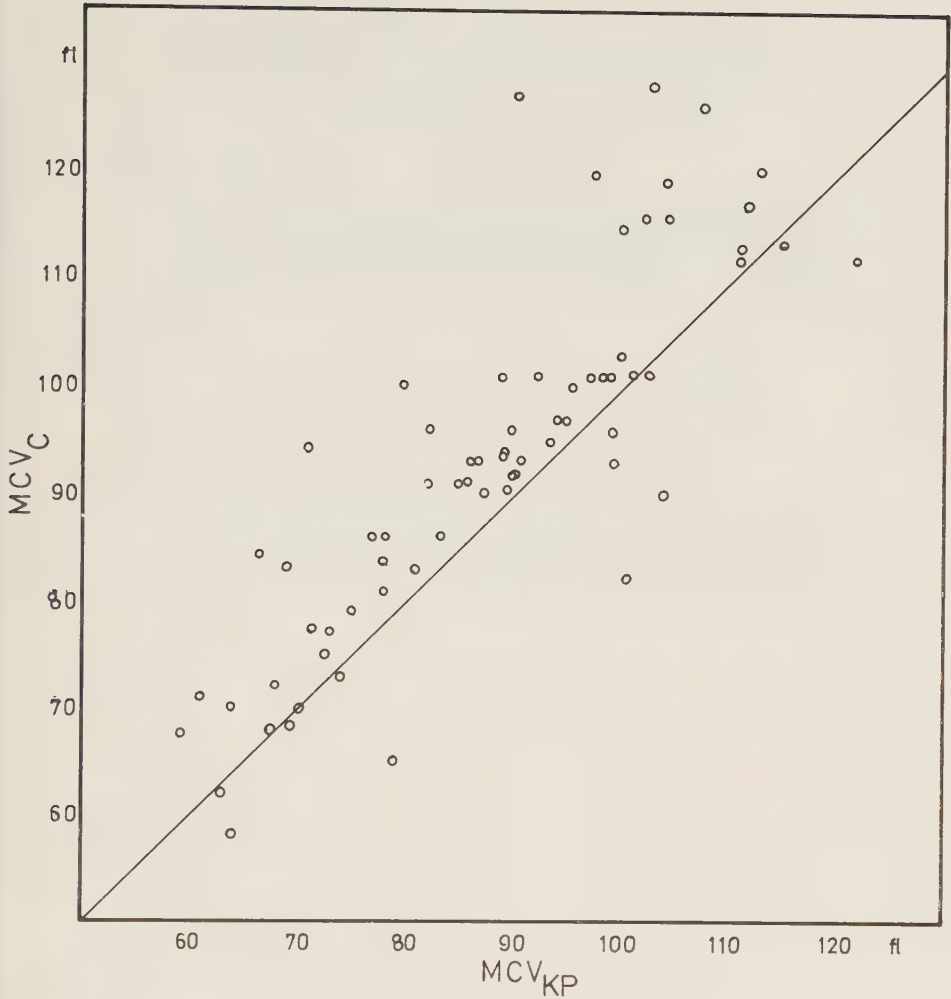


Abb. 5.2.4.: MCV -Werte des Coulter Counters (MCV_C),
verglichen mit denen, die aus der Phthal-
säure-Mikrohämatokrit-Methode, korrigiert,
(MCV_{KP}) erhalten wurden.

5.2.5. VERGLEICH DER MCV-WERTE DER EINFACHEN MIKRO-
ZENTRIFUGENMETHODE (KORRIGIERT) MIT DENEN DER
MODIFIZIERTEN PHTHALSÄUREMETHODE (KORRIGIERT)

Der Vergleich dieser beiden Methoden sollte den Einfluß der Verwendung von Phthalsäure zeigen. Es fand sich hierbei nur noch eine geringe Streuung (Abb. 5.2.5.). Die Berechnungen für die mittleren Differenzen (Mikrozentrifugenmethode - Phthalsäuremethode) und die Streuungen ergaben:

Normozyten	- 0,94 ± 2,77 fl
Makrozyten	1,21 ± 2,39 fl
Mikrozyten	1,62 ± 2,87 fl.

Die Korrelation war mit $r = 0,76$ signifikant. Es zeigte sich, daß die Phthalsäuremethode bei abnorm großen bzw. abnorm kleinen Zellen niedrigere Werte als die korrigierte einfache Methode angab, während die Werte im Normbereich eher höher lagen.

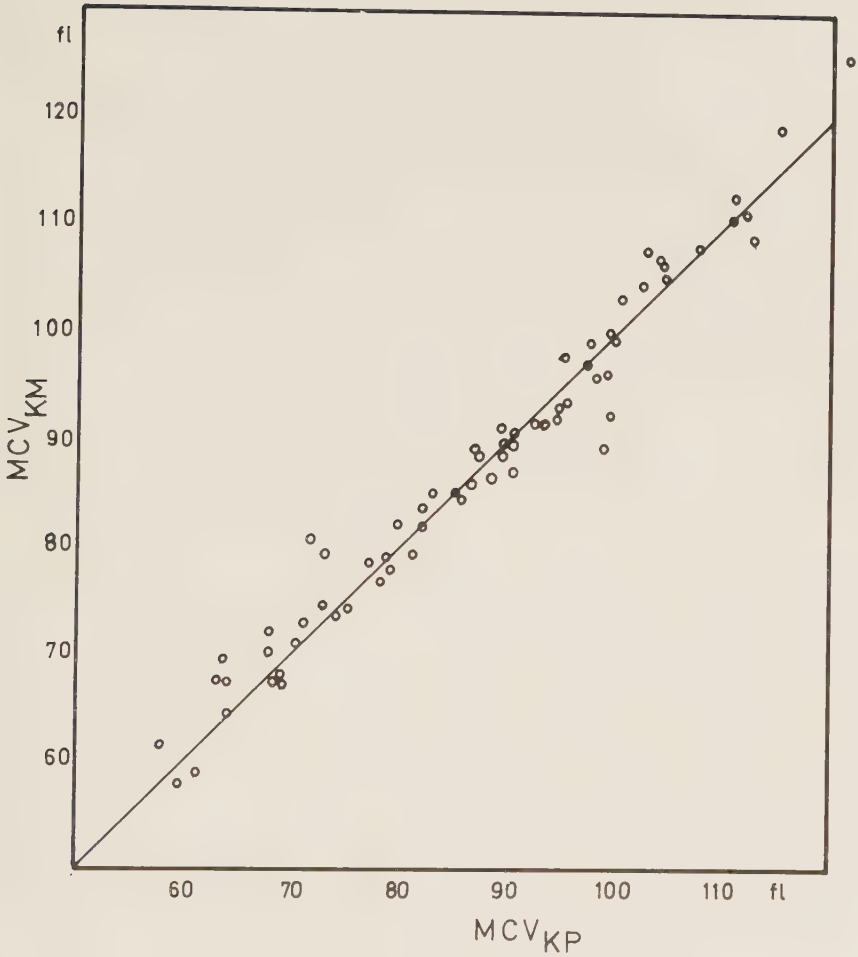


Abb. 5.2.5.: MCV-Werte der einfachen Mikrozentrifugenmethode, korrigiert um das "trapped plasma" (MCV_{KM}), verglichen mit denen der modifizierten Phthalsäure-Methode, ebenfalls korrigiert um das "trapped plasma" (MCV_{KP}).

5.2.6. VERGLEICH DER MCV-WERTE DES COULTER COUNTERS MIT DENEN DER RADIOJODMETHODE

Die mittlere Differenz der 24 Normozytenpaare war bei diesem Vergleich am höchsten. Die Werte streuten jedoch nicht mehr als bei dem Vergleich der Coultermethode mit der Mikrozentrifugenmethode. Auch hier zeigten die Makrozyten die höchste, die Mikrozyten eine nur wenig größere Streuung als die Normozyten (Abb. 5.2.6.). Der Korrelationskoeffizient betrug 0,77, bei einem Mittelwert der x-Werte (Radiojodmethode) von $92,2 \pm 9,1$ fl und der y-Werte (Coulter) von $91,8 \pm 10,5$ fl.

Die mittleren Differenzen (Coulterwerte - Radiojodwerte) betrugen rund 3 - 5 % der absoluten Coulterwerte:

Normozyten	$4,67 \pm$	8,26 fl
Makrozyten	$3,16 \pm$	11,47 fl
Mikrozyten	$2,75 \pm$	8,72 fl.

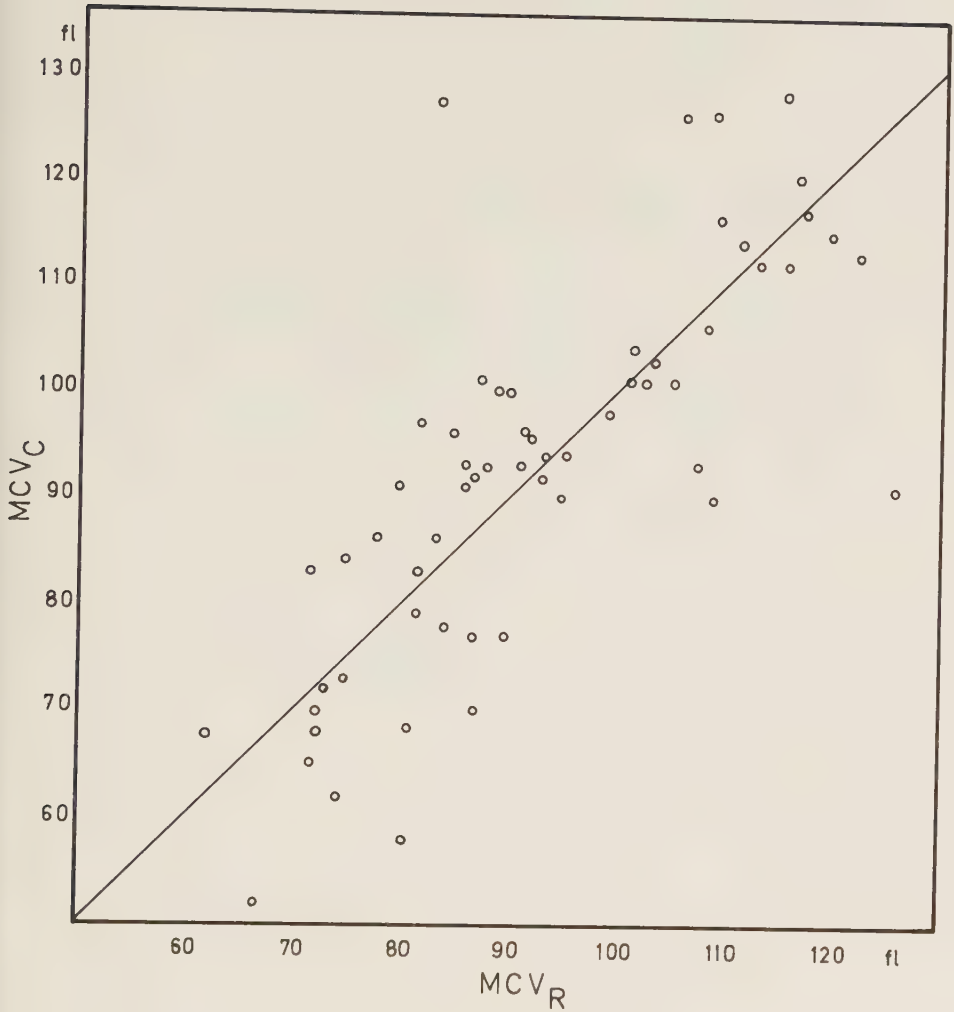


Abb. 5.2.6.: MCV-Werte des Coulter Counters (MCV_C),
verglichen mit den durch die direkte Radio-
jodmethode gewonnenen Werten (MCV_R).

5.2.7. VERGLEICH DER MCV-WERTE DER MIKROZENTRIFUGEN- METHODE (KORRIGIERT) MIT DENEN DER RADIOJODMETHODE

Der Vergleich der Werte der y-Achse ($MCV_{KM} \bar{x} = 90,52 \pm 15,56 \text{ fl}$) mit denen der x-Achse ($MCV_R \bar{x} = 91,75 \pm 15,62 \text{ fl}$) ergab eine signifikante Korrelation ($r = 0,83$).

Abb. 5.2.7. zeigt die große Streuung bei allen Zellgrößen. Die Werte der Radiojodmethode lagen im Mittel um 3,8 % über denen der um das "trapped plasma" korrigierten Mikrohämatokritmethode, obwohl der Radiojodhämatokrit unabhängig vom "trapped plasma" berechnet wird. Die Differenzen (korrigierte Mikrozentrifugenmethode - Radiojodmethode) und Streuungen betrugen im einzelnen bei:

Normozyten	- $2,34 \pm 5,83 \text{ fl}$
Makrozyten	- $1,48 \pm 9,97 \text{ fl}$
Mikrozyten	- $1,54 \pm 9,96 \text{ fl}$.

D. h., bei einer um knapp 1 fl größeren mittleren Differenz der Normozyten lag deren Streuung etwa 40 % unter der von abnorm großen bzw. kleinen Zellen.

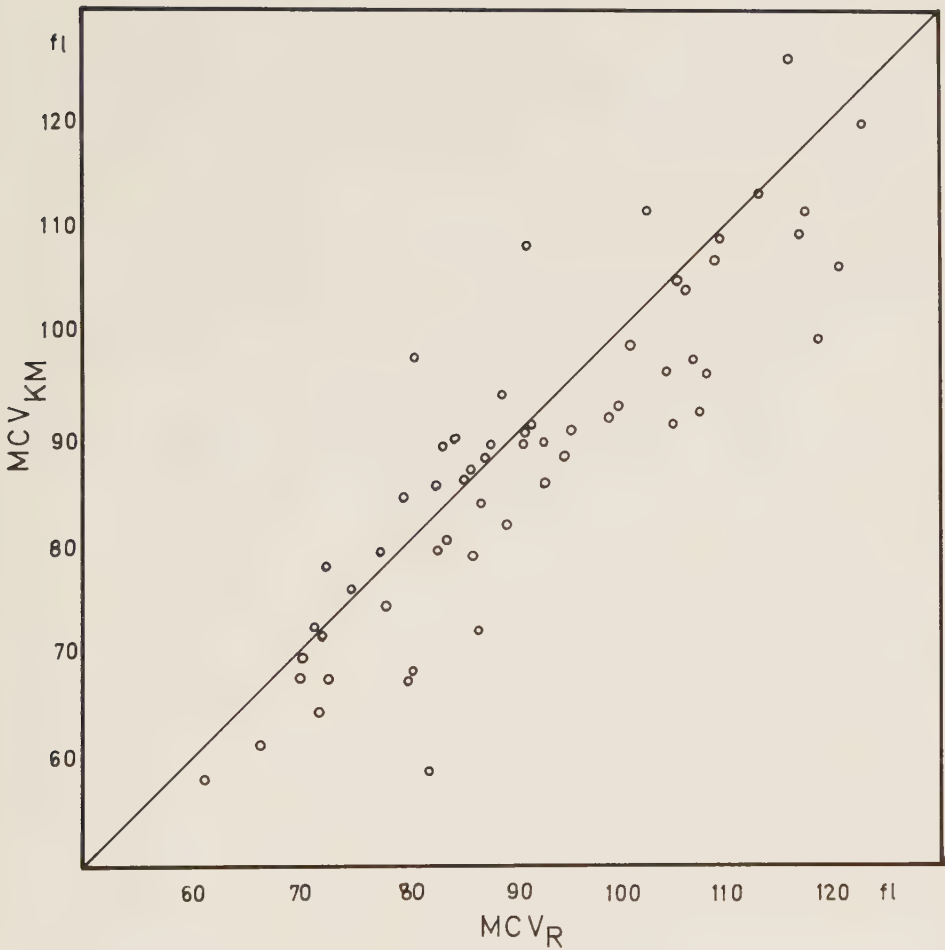


Abb. 5.2.7.: MCV-Werte der einfachen Mikrohämatokrit-Methode, korrigiert um das "trapped plasma" (MCV_{KM}), verglichen mit den durch die direkte Radiojodmethode gewonnenen Werten (MCV_R).

5.3. "TRAPPED PLASMA"

Im Folgenden wurde das nach Zentrifugation in der Erythrozytensäule verbleibende Plasma ("trapped plasma") zu anderen Parametern des roten Blutbildes in Beziehung gesetzt.

5.3.1. "TRAPPED PLASMA" UND ERYTHROZYTENZAHLE

In Abb. 5.3.1. wurde die Anzahl der Erythrozyten gegen die Höhe des "trapped plasma" aufgetragen und die Regressionsgerade eingezeichnet.

Es bestand keine Korrelation zwischen beiden Parametern ($r = -0,05$). Die Abnahme des "trapped plasma" mit zunehmender Erythrozytenzahl ist gering und nicht signifikant. Auch bei Berücksichtigung unterschiedlicher Erythrozytengrößen bestand keine Beziehung zwischen "trapped plasma" und Erythrozytenzahl.

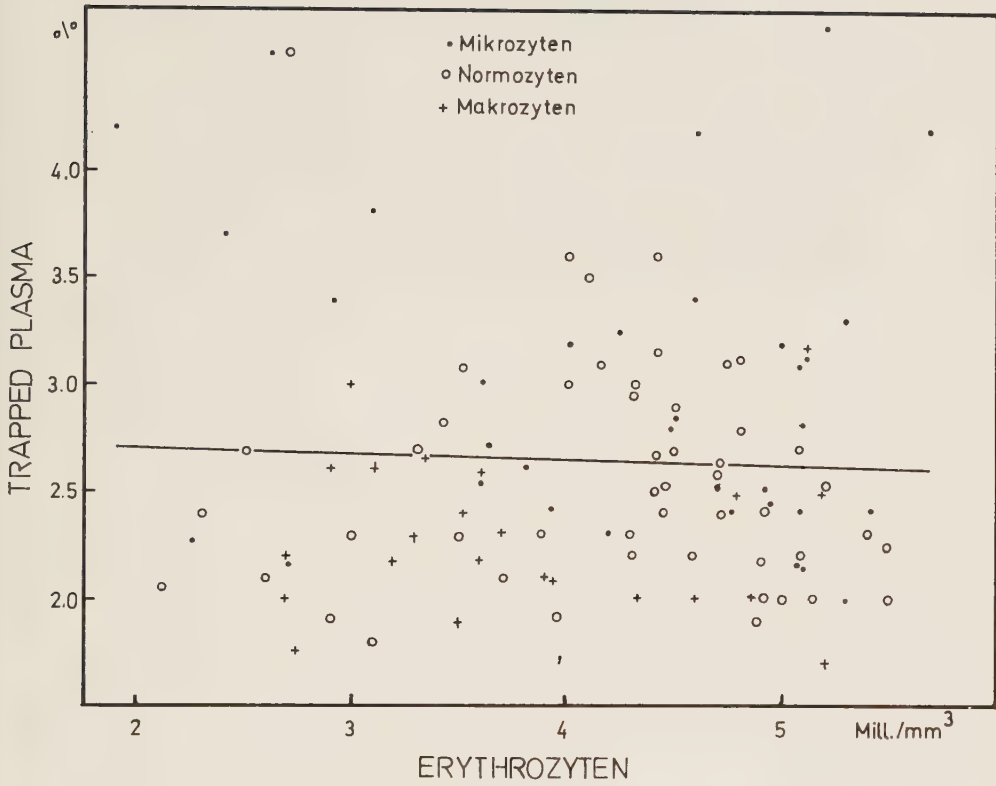


Abb. 5.3.1.: Beziehung zwischen "trapped plasma" und Erythrozytenzahl.

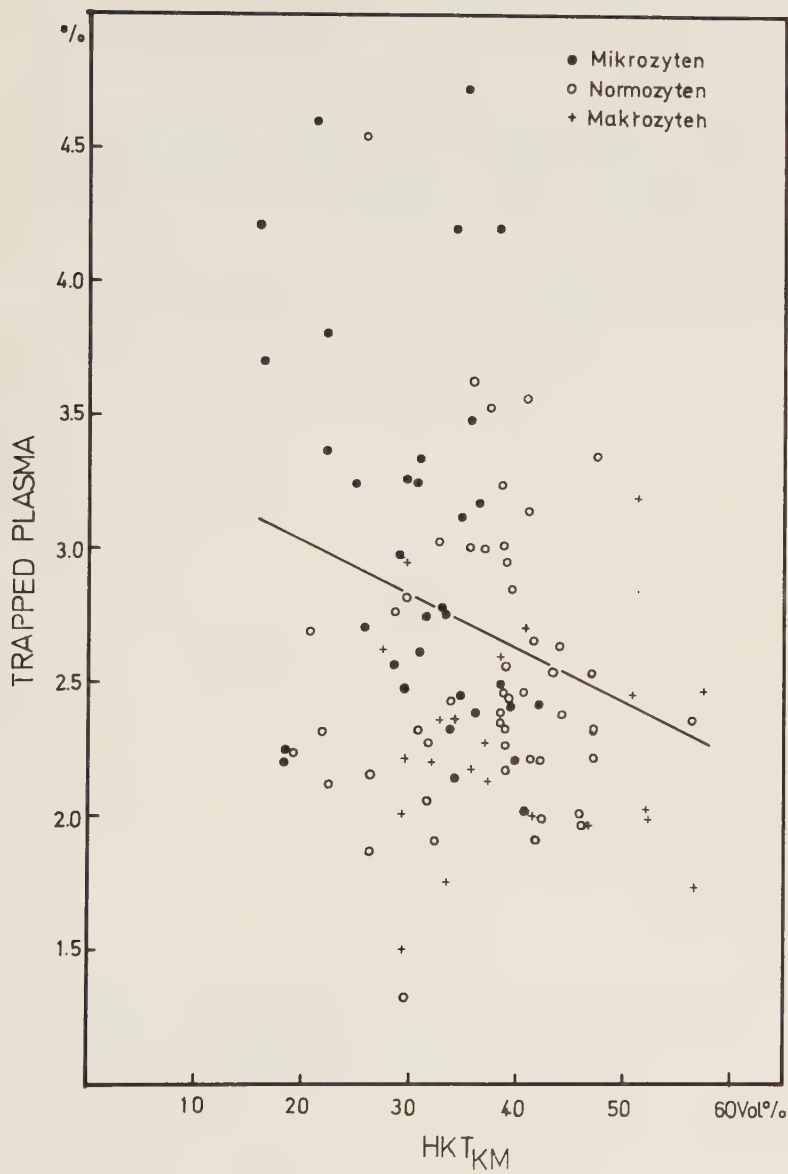
5.3.2. "TRAPPED PLASMA" UND MIKROZENTRIFUGENHÄMATOKRIT (KORRIGIERT)

Abb. 5.3.2. zeigt die Beziehung zwischen "trapped plasma" (% , y-Achse) und dem um dieses "trapped plasma" korrigierten Mikrozentrifugenhämatokrit (Vol.%, x-Achse).

Es bestand eine signifikante negative Beziehung ($r = - 0,29$; $p < 0,01$).

Das "trapped plasma" nahm also mit steigendem Hämatokrit ab. Auffallend ist, daß die Mikrozyten häufig niedrige Hämatokrit- und hohe "trapped plasma"-Werte aufwiesen, was damit zusammenhängt, daß sich einerseits unter diesen Probanden hauptsächlich Kinder mit einer Eisenmangelanämie befanden, und sich andererseits Mikrozyten schlechter packen lassen, zwischen ihnen also mehr Raum für "trapped plasma" ist.

Abb. 5.3.2.: Beziehung zwischen "trapped plasma" und
(S. 55) Mikrohämatokrit, korrigiert um dieses
"trapped plasma" (HKT_{KM}).

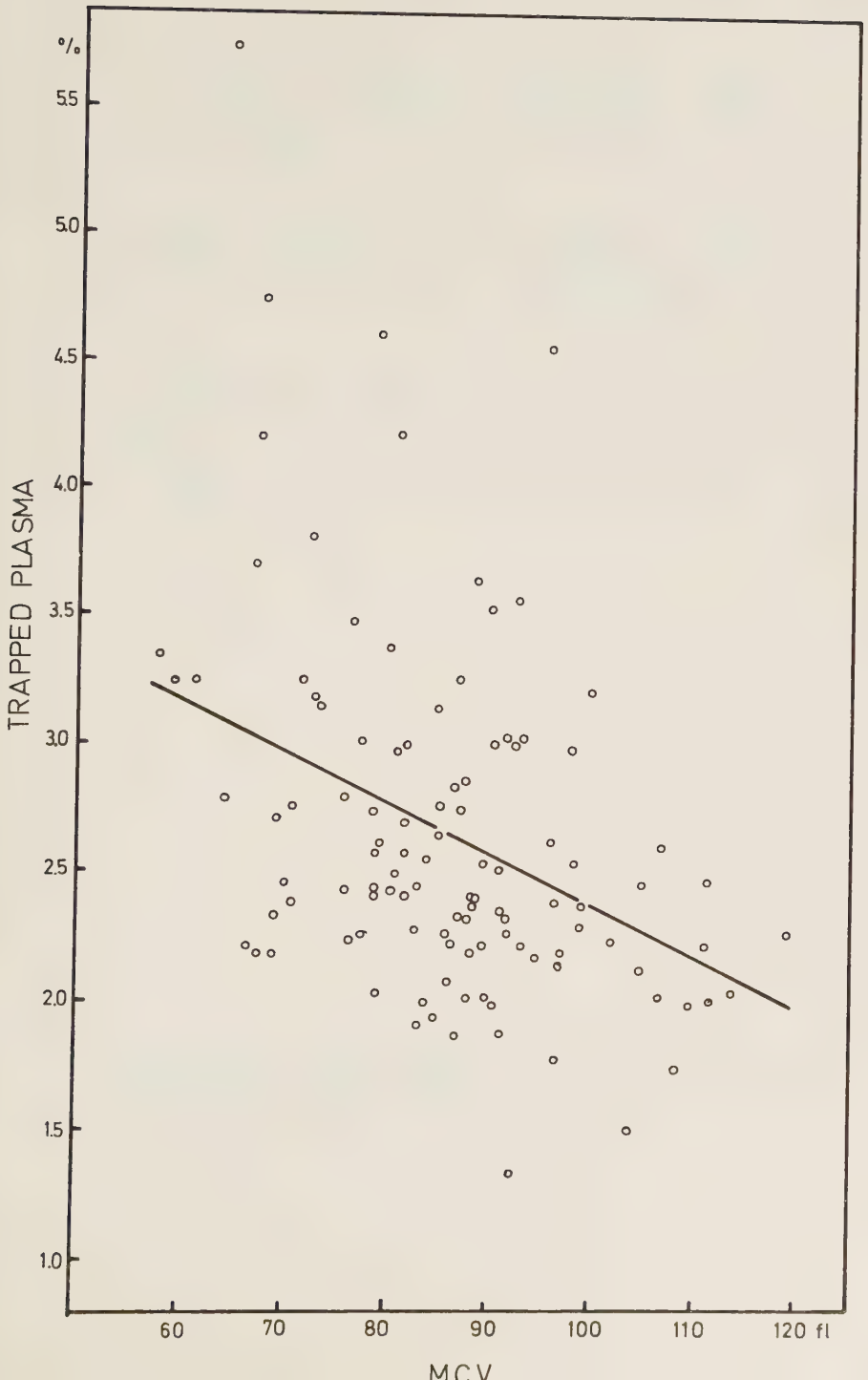


5.3.3. "TRAPPED PLASMA" UND ERYTHROZYTENVOLUMEN (MCV DER KORRIGIERTEN MIKROHÄMATOKRITMETHODE)

Wie aus Abb. 5.3.3. ersichtlich, besteht ein deutlicher Zusammenhang zwischen der Höhe des "trapped plasma" ($\%$, y-Achse) und dem mittleren korpuskulären Erythrozytenvolumen, berechnet nach Korrektur des Mikrozentrifugenhämatokrits um dieses "trapped plasma" ($MCV_{KM}(fl)$ = x-Achse).

Der Korrelationskoeffizient betrug $-0,39$ ($p < 0,001$). Dies bedeutet eine stetige Abnahme des "trapped plasma" mit zunehmender Erythrozytengröße.

Abb. 5.3.3.: Beziehung zwischen "trapped plasma" und den
(S. 57) aus der korrigierten Mikrozentrifugen-Methode
berechneten MCV-Werten (MCV_{KM})

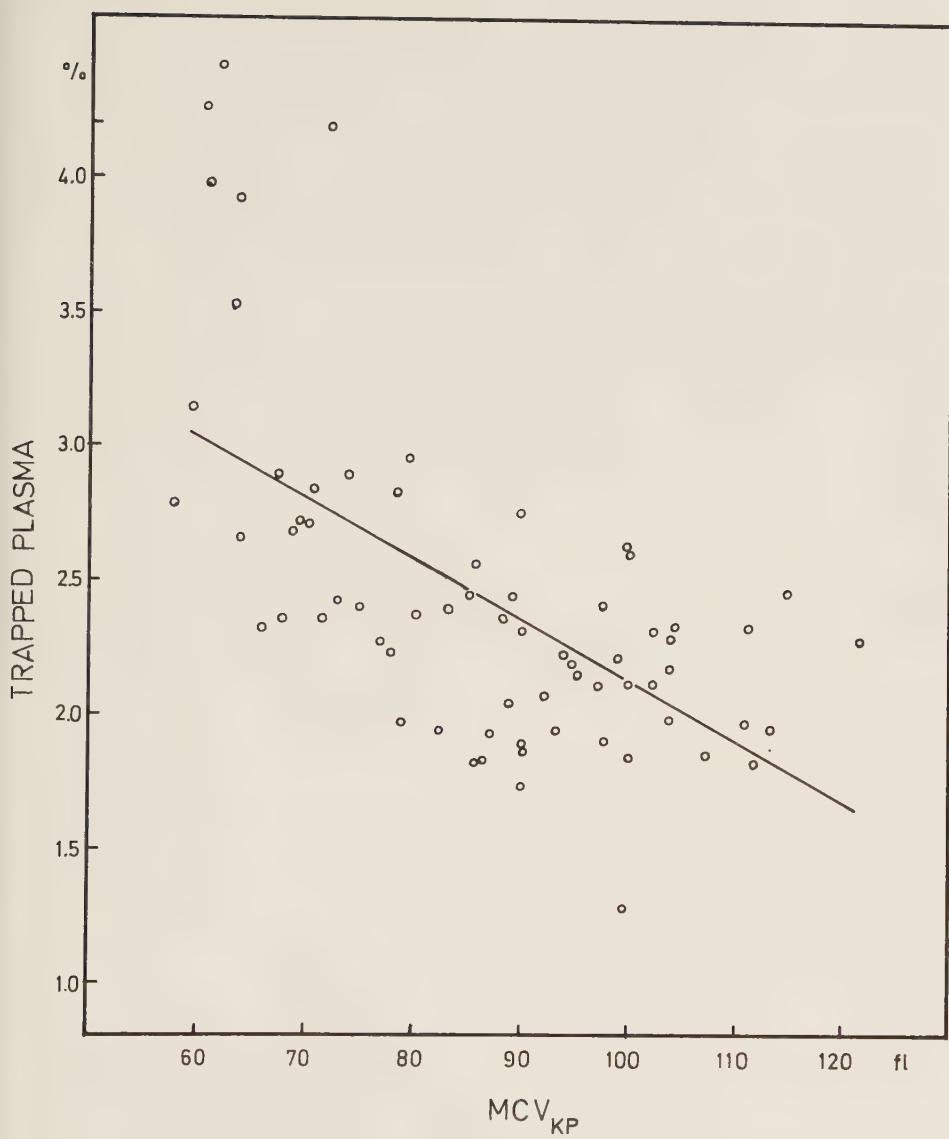


5.3.4. "TRAPPED PLASMA" UND ERYTHROZYTENVOLUMEN, WERTE DER KORRIGIERTEN PHTHALSÄUREMETHODE

Auch hier besteht ein deutlicher Zusammenhang zwischen der Höhe des "trapped plasma" ($\%$ = y-Achse) und dem Erythrozytenvolumen (MCV_{KP} (fl) = x-Achse). Das MCV wurde aus dem um das "trapped plasma" korrigierten Hämatokrit der Phthalsäuremethode berechnet (Abb. 5.3.4.).

Der Korrelationskoeffizient war mit - 0,57 größer als bei der einfachen Mikrohämatokritmethode, während die Steigung beider Regressionsgeraden (Berechnung siehe Tabelle 8.2.) gleich war. Das "trapped plasma" nahm also bei der Phthalsäuremethode ebenso mit zunehmendem MCV ab, bei jedoch geringerer Streuung der Werte um die Regressionsgerade.

Abb. 5.3.4.: Beziehung zwischen "trapped plasma" und
(S. 59) den aus der korrigierten Phthalsäure-Methode berechneten MCV-Werten (MCV_{KP}).



5.3.5. "TRAPPED PLASMA" UND VISKOSITÄT

Die Abbildungen 5.3.5.1. und 5.3.5.2. zeigen die Beziehung zwischen dem "trapped plasma" und der Viskosität bei einer Scherrate von 23 und 230 sec^{-1} .

Das "trapped plasma" nahm mit der Viskosität (gemessen bei einem auf 60 Vol. % eingestellten Hämatokrit) zu. Die Korrelation ist jedoch nicht signifikant ($r = 0,29$ bzw. $0,24$).

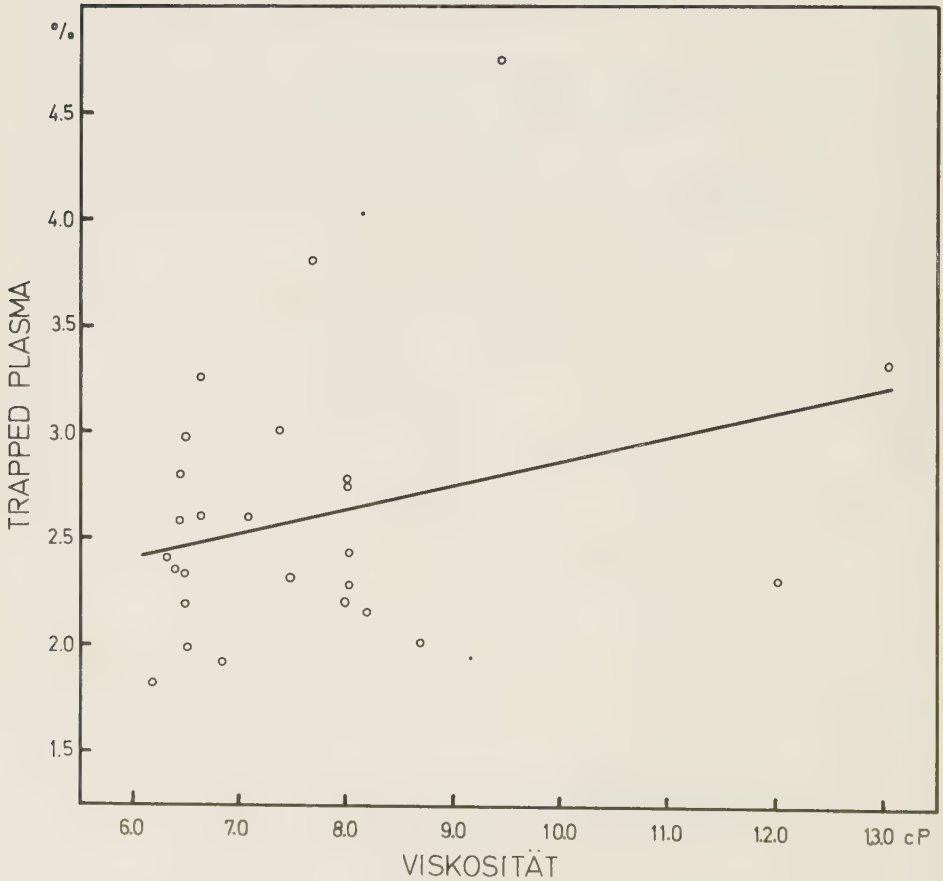


Abb. 5.3.5.1.: Beziehung zwischen "trapped plasma" und Viskosität bei einer Scherrate von 23 sec^{-1} und einem auf 60 Vol. % eingestellten Hämatokrit.

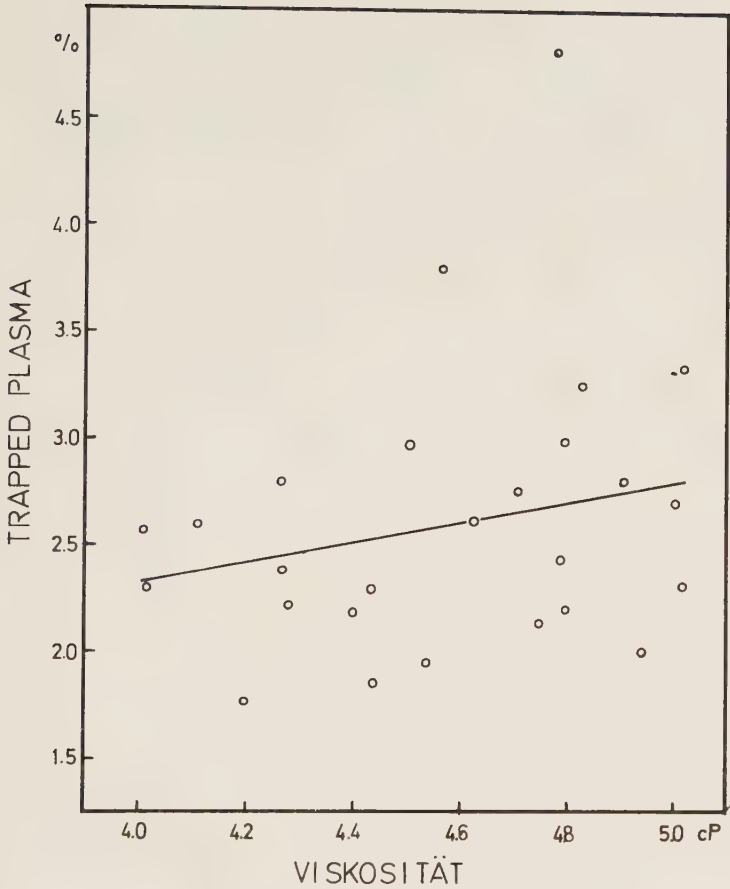


Abb. 5.3.5.2.: Beziehung zwischen "trapped plasma" und Viskosität bei einer Scherrate von 230 sec^{-1} und einem auf 60 Vol.-% eingestellten Hämatokrit.

5.4. VISKOSITÄT UND MCV-WERTE DER KORRIGIERTEN MIKROZENTRIFUGENMETHODE

Die Abbildungen 5.4.1. und 5.4.2. zeigen die Beziehung zwischen Viskosität und MCV.

Die Viskosität, gemessen bei einem auf 60 Vol.% eingestellten Hämatokrit, wurde sowohl bei einer Scherrate von 23 sec^{-1} , als auch bei einer von 230 sec^{-1} bestimmt, und nahm mit steigendem MCV ab.

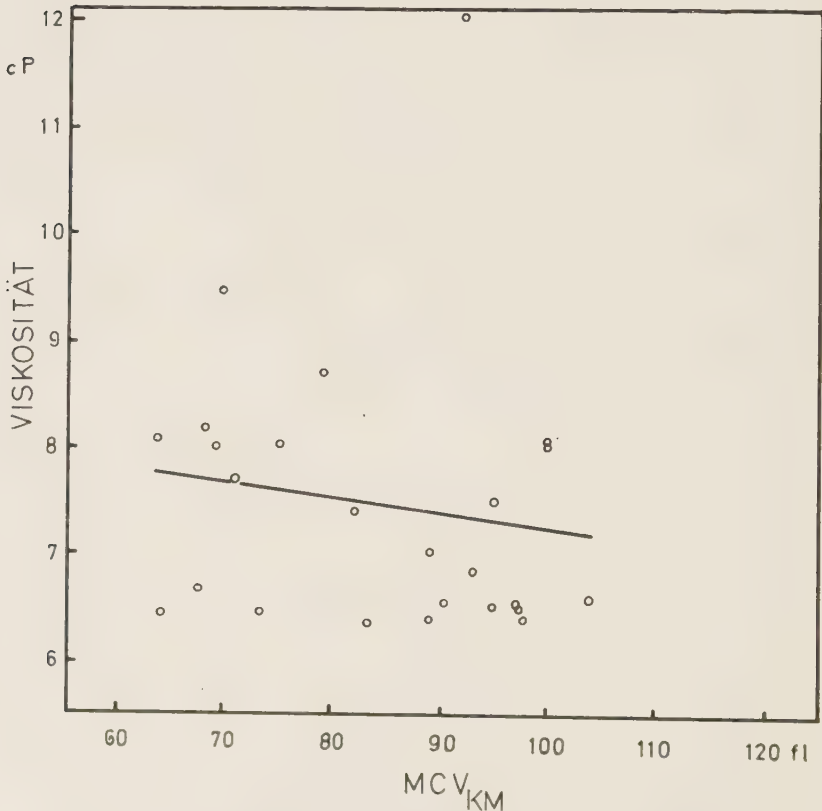


Abb. 5.4.1.: Beziehung zwischen Viskosität bei einem Hämatokrit von 60 Vol.% und einer Scherrate von 23 sec^{-1} und den MCV-Werten der korrigierten Mikrozentrifugenmethode (MCV_{KM}).

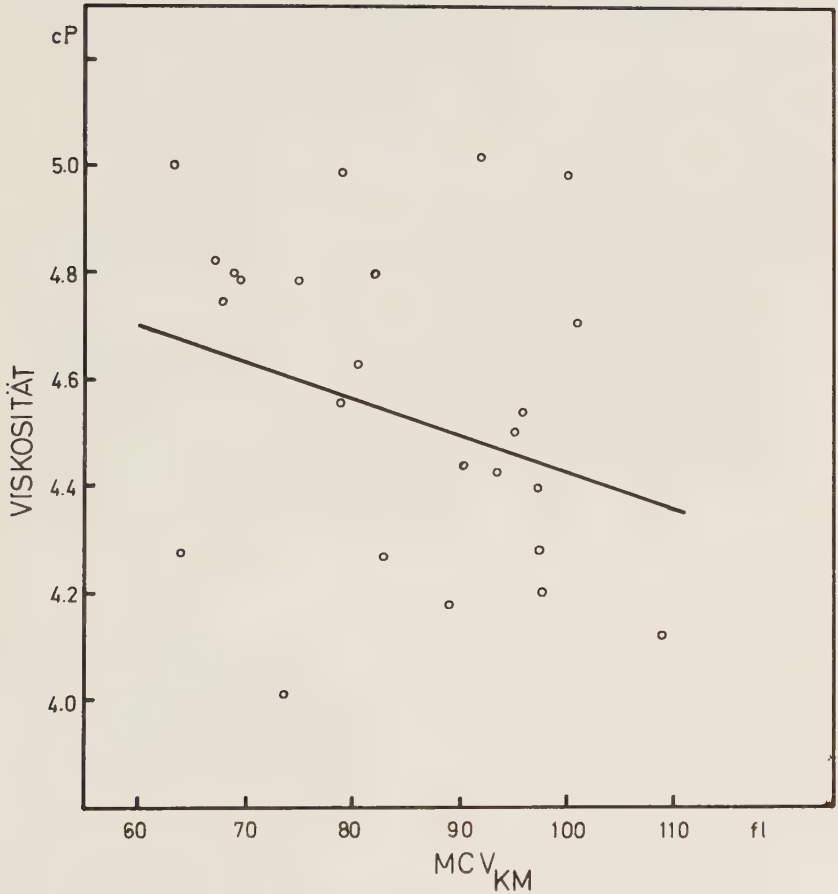


Abb. 5.4.2.: Beziehung zwischen Viskosität bei einem Hämatokrit von 60 Vol.% und einer Scher-
rate von 230 sec^{-1} und den MCV-Werten der
korrigierten Mikrozentrifugenmethode
(MCV_{KM}).

6. DISKUSSION

Mit der Gegenüberstellung der Hämatokritbestimmung im Coulter Counter und in der Mikrozentrifuge wurden zwei ganz verschiedene Prinzipien miteinander verglichen. Differenzen können im Unterschied der Prinzipien begründet sein, können aber auch vordergründig durch fehlerhafte Methodik entstehen. Daher soll zunächst die Einflußmöglichkeit solcher methodischer Fehler bei beiden Verfahren diskutiert werden.

6.1. FEHLERQUELLEN DES COULTER COUNTERS

6.1.1. UNGENAUE VERDÜNNUNGEN

Die Verdünnung des Blutes in der Elektrolyt- (Isoton^R-) lösung von 1 : 50 000 muß exakt eingehalten werden. Verdünnungsfehler können durch Verwendung geeicher Mikropipetten und durch regelmäßig zweimaliges Ausspülen des aufgezogenen Blutes in der Verdünnungslösung, sowie exakte Abfüllung dieser in die Reagenzgefäße durch ein Pumpgerät vermieden werden.

6.1.2. FEHLERHAFTE ISOTON-CHARGE

Fehlerhafte Isoton-Chargen führen wahrscheinlich durch zu hohe oder zu niedrige Osmolarität zu Schrumpfung bzw. Schwellung der Erythrozyten (Kuse u. Hausmann 1976). Hierdurch wird das MCV und damit der aus MCV und Erythrozytenzahl berechnete Hämatokrit verfälscht. Regelmäßige Kontrollen mit stabilisiertem 4C^R-Blut, dessen Zusammensetzung bekannt ist, sind erforderlich, decken aber nicht immer die Fehler der Charge bei nicht stabilisiertem Patientenblut auf. 4C^R-Blut ist jedoch aufgrund seiner präparativen Stabilisierung weniger empfindlich gegenüber osmotischen Schwankungen als normales Blut (Kuse u. Hausmann 1976).

Deshalb sind zusätzlich Kontrollen mit frischem Blut gesunder Probanden notwendig. Bucher (1972) empfiehlt dies neben täglicher Kontrolle mit 4C^R-Blut, sowie gelegentlicher Prüfung mit makro- und mikrozytären Proben.

6.1.3. VERUNREINIGUNG DURCH DETERGENZIEN

Isoterge^R oder andere Detergenzien, die zur Reinigung des Durchflußsystems im Coulter Counter benutzt werden, verursachen bei unvollständiger Entfernung Schwellungen der Erythrozyten und damit eine Erhöhung des mittleren korpuskulären Volumens (Raess u. Vincenti 1975, Young u. Lawrence 1975).

6.1.4. WIDERSTANDSÄNDERUNGEN IN DER KAPILLARÖFFNUNG

* Gerinnseln in der Kapillaröffnung oder Luftblasen in der Erythrozytensuspension erhöhen den elektrischen Widerstand. Dieser Fehler wird durch Bestimmung des Leerwertes aufgedeckt. Die Verschmutzung der Kapillaröffnung wird zudem durch ein optisches System vergrößert und kann auf einem Bildschirm kontrolliert werden (Coulter Anleitungshandbuch). Außerdem werden hierdurch Erythrozyten an den Rand der Kapillaröffnung gedrängt. Da das elektrische Feld in der Meßkapillaröffnung nicht homogen ist, bewirkt die randständige Passage der Erythrozyten eine größere Widerstandsänderung, d. h. eine Überschätzung des MCV (Thom et al. 1969, England u. Down 1976). Daneben soll das elektrische Feld selbst eine Änderung von Erythrozytenform und -größe hervorrufen können (Ur u. Lushbaugh 1968).

6.1.5. TEMPERATUR

Das MCV sinkt bei Zunahme der Temperatur der Erythrozytensuspension von 13° C auf 35° C um 5 fl oder mehr ab, die Ursache ist unbekannt (Young u. Lawrence 1975).

6.1.6. ATMOSPHERISCHE VERUNREINIGUNGEN

Hohe Luftfeuchtigkeit kann ebenso wie gleichzeitig laufende Ultraschallvernebler zur Beimischung staubhaltiger Wasserpunkte zu der Erythrozytensuspension und damit zur Überschätzung der Erythrozytenzahl führen. Dieser Fehler wird ebenfalls durch Ermittlung des Leerwertes aufgedeckt: Impulshöhe (im Oszilloskop sichtbar) bei Messung der reinen Elektrolytlösung.

6.1.7. STÖRUNGEN IM STROMNETZ

Diese entstehen durch gleichzeitig laufende Elektromotoren, z. B. Ventilatoren und Zentrifugen, und verursachen kurzzeitige Änderungen der Stromzufuhr.

6.1.8. SCHWELLENWERTEINSTELLUNG

Partikel jeder Größe ändern den elektrischen Widerstand in der Kapillaröffnung des Coulter Counters. Zur Elimination von Partikeln, die kleiner (Thrombozyten) und größer (Leukozyten) als Erythrozyten sind, wird eine obere und eine untere Diskriminationsschwelle eingestellt. Hierdurch werden je nach Wahl der Schwelle aber auch extrem kleine und extrem große Erythrozyten nicht mitgezählt (England u. Down 1974).

6.1.9. KOINZIDENZFEHLER

Koinzidenzfehler entstehen durch gleichzeitige Passage von zwei oder mehr Erythrozyten durch die Kapillaröffnung. Dadurch werden zu niedrige Erythrozytenzahlen und zu hohe MCV-Werte gemessen. Dieser Fehler tritt bei hohen Erythrozytenzahlen auf und kann durch stärkere Verdünnung vermieden werden (Cook 1967).

6.1.10. ERYTHROZYTENAGGLUTINATION

Agglutination von Erythrozyten aufgrund von Kälteagglutininen (Hattersley et al. 1971, Wainscoat 1977), bei autoimmun-hämolytischer Anämie (Brittin et al. 1969) und anderen hämatologischen Erkrankungen mit positivem Coombstest (de Lange et al. 1976) verursacht eine Überschätzung des MCV-Wertes und eine Unterschätzung der Erythrozytenzahl. Es erscheint denkbar, daß vermehrte Aggregation von Erythrozyten (z. B. bei Diabetes mellitus) ähnliche Veränderungen bewirken kann.

Ein Teil der Fehlerquellen beruht also auf Koinzidenz von Erythrozyten in der Kapillaröffnung, sei es durch erhöhte Anzahl oder durch Aggregation der Erythrozyten. Dieser Fehler führt zwangsläufig zur Unterschätzung der Erythrozytenzahl, zur Überschätzung des MCV-Wertes, aber nur, wenn die durch mehrere Erythrozyten bewirkte Erhöhung des elektrischen Wider-

standes nicht die obere Schwelle überschreitet. Denn in diesem Fall koinzidierender Erythrozyten werden die Impulse überhaupt nicht registriert.

Jeder die Erythrozytenzahl und/oder das MCV betreffende Fehler verfälscht zwangsläufig den Hämatokritwert, der ja als Produkt aus Erythrozytenzahl und MCV berechnet wird.

6.2. FEHLERQUELLEN BEI DER BESTIMMUNG DES MIKROZENTRIFUGENHÄMATOKRITS

Die konventionellen Methoden der Hämatokritbestimmung beruhen auf der Trennung von Erythrozyten und übrigen Blutbestandteilen durch Zentrifugation. Da Erythrozyten ein größeres spezifisches Gewicht besitzen als Leukozyten, Thrombozyten und Plasma, werden sie während der Zentrifugation nach außen geschleudert und dicht gepackt. Der englische Begriff "packed cell volume" definiert diesen Tatbestand besser als der Begriff "Hämatokrit", der ursprünglich nur den Vorgang der Trennung beschrieb (Hedin 1891: $\alpha\iota\mu\alpha$ = Blut, $\kappa\rho\iota\tau\omicron\varsigma$ = selektiert).

Aus dieser Technik leiten sich drei verschiedene Fehlerquellen ab:

1. Es verbleibt immer ein Rest Plasma zwischen den gepackten Erythrozyten ("trapped plasma"). D. h. der abgelesene überschätzt stets den wahren Hämatokrit um dieses "trapped plasma".
2. Die dichte Packung kann zu einer Quetschung und Zerstörung der Erythrozyten führen.
3. Es können Fehler beim Ablesen des Hämatokrits entstehen.

6.2.1. FEHLER DURCH "TRAPPED PLASMA"

Die Größe des "trapped plasma" hängt von der Packbarkeit der Erythrozyten und diese wiederum von den Eigenschaften dieser Zellen und von denen der verwendeten Zentrifuge ab: Das "trapped plasma" nimmt mit der auf die Erythrozyten einwirkenden Zentrifugalkraft ab. Diese ist direkt proportional dem

Abstand der Partikel vom Zentrum der Zentrifuge und von der Umdrehungszahl pro Minute (U). Sie wird in der Regel als Faktor der Schwerkraft angegeben und nach folgender Formel berechnet:

$$z \text{ g} = 11,18 \times r \times U^2 \times 10^{-6},$$

wobei z die relative Zentrifugalkraft ist (Wintrobe 1967). Der Radius ist definiert als Abstand der Basis (= zentralgerichtetes Ende) der Erythrozytensäule und dem Zentrum der Zentrifuge. Die Zentrifugalkraft nimmt mit dem Radius zu. Auf die weiter außen liegenden roten Blutkörperchen wirkt also eine größere Kraft als auf die weiter innen liegenden. Damit ist ein zunehmendes "trapped plasma" in der Erythrozytensäule von außen nach innen zu erwarten.

Die Umdrehungszahl beeinflusst als zweiter Faktor die Zentrifugalkraft. Früher verwendete Zentrifugen erreichen eine Umdrehungszahl von etwa 2 000 - 3 000 U/min. Die modernen Zentrifugen erreichen bereits eine Umdrehungszahl von 10 000 U/min. oder mehr.

Eine Zentrifugalkraft von 10 000 g reicht für die maximale Packung der Erythrozyten aus (Burck 1970). Bei einer Umdrehungszahl von 12 500 U/min. der in der vorliegenden Arbeit verwendeten Zentrifuge muß der Abstand der Erythrozyten vom Zentrum der Zentrifuge also mindestens 5,7 cm betragen, um eine Zentrifugalkraft von 10 000 g zu erreichen. Da bei den eigenen Versuchen der zentrale Beginn der Erythrozytensäule stets weiter als 6,5 cm vom Zentrum der Zentrifuge entfernt war, dürfte das "trapped plasma" in der Erythrozytensäule nicht variiert haben und nicht mehr zu unterschreiten gewesen sein.

Anders bei den früher verwendeten Zentrifugen: Bei der von Wintrobe (1967) vorgeschlagenen Methode wird mit einer Zentrifuge gearbeitet, die lediglich eine Zentrifugalkraft von 2260 g erreicht. Hierbei nimmt das "trapped plasma" in der Erythrozytensäule nach innen zu (Chaplin u. Mollison 1952, Hlad 1953). Die Angaben über das bei dieser Technik in der Erythrozytensäule verbleibende Plasma schwanken zwischen 1 % und 8 %, meist werden 4 % bis 5 % angegeben (s. a. Tab. 6.2.1.).

Mit der Mikrozentrifuge werden entsprechend der höheren Zentrifugalkraft geringere "trapped plasma"-Werte gefunden. Die Literaturangaben variieren zwischen 0,5 und 5 %. Die Mehrzahl der Autoren gibt Werte zwischen 2 % und 3 % an, was mit unseren Ergebnissen übereinstimmt (Tab. 6.2.1.). Bei Anwendung niedertouriger Zentrifugen nimmt das "trapped plasma" (in % des Hämatokrit) mit dem Hämatokrit zu (Chaplin u. Mollison 1953, Ebough et al. 1955, Chien 1965, Economou u. Tsenghi 1965, Crosland-Taylor 1975). Ebenso ergeben alte Mikrozentrifugen zu hohe Werte (Boggs 1976).

Mit der Mikrozentrifuge beobachtete lediglich Albert (1963) eine erhebliche Zunahme des "trapped plasma" mit dem Hämatokrit, andere Autoren fanden keine Abhängigkeit (Garby u. Vuille 1961, Rustad 1964, Sirs 1968, Stone 1968, Burck 1970, Linderkamp 1974).

Die Größe des "trapped plasma" hängt also allein von den Eigenschaften der zentrifugierten Erythrozyten ab, d. h. von deren Packbarkeit. Durch die Zentrifugation werden die Zellen deformiert. Je schlechter sie sich verformen lassen, desto geringer ist ihre Packbarkeit, d. h. durch die verminderte Deformierbarkeit verbleiben größere Räume zwischen den Erythrozyten, die mit Plasma ausgefüllt sind. Dieses "trapped plasma" kann als Maß der Deformierbarkeit gelten. Die Beziehung zwischen "trapped plasma" und Viskosität (Abb. 5.4.) verdeutlicht dies. Tatsächlich sind z. B. glutaraldehydfixierte Erythrozyten, die nicht mehr deformierbar sind, wesentlich schlechter packbar als normale Zellen (Ham et al. 1968). Das gleiche gilt für Sichelzellen, Sphärozyten, Hb-CC-Zellen, die ebenfalls weniger deformierbar sind (Erslev u. Atwater 1963, Murphy 1967, Sirs 1968, Murphy 1968, Ham et al. 1968, England et al. 1972, Hellerstein u. Buntharungroi 1974). Mikrozyten (infolge von Eisenmangel) sind im Vergleich mit normalen Erythrozyten ebenfalls schlechter deformierbar (Card u. Weintraub 1971, Klose et al. 1976, Linderkamp et al. 1976).

Dies entspricht einer Zunahme des "trapped plasma" mit sinkendem MCV nach eigenen Untersuchungen. England et al. (1972) fanden mit der Mikromethode ein "trapped plasma" von 3 % zwischen Normozyten und von 4,5 % zwischen hypochromen Erythrozyten. Hellerstein et al. (1970) fanden nach Zentrifugation mit 2500 g ebenfalls ein deutlich erhöhtes "trapped plasma" in mikrozytärem Blut. Verminderte Deformierbarkeit und erhöhtes "trapped plasma" wird allgemein bei Mikrozyten gefunden:

Tab. 6.2.1.: "Trapped plasma"Bestimmungen in der Literatur

Autor	Jahr	Methode	"trapped plasma"/Hkt	
Gregerson	1938	Verdünnungsme- thode mit T1824 3000 U/min	8,0 %	/-
Chapin, Ross	1942	Verdünnungsme- thode mit T1824 u. Brillant- Vital-Rot	4,2 %	/-
Jackson, Nutt	1951	Verdünnungsme- thode mit Evan's Blue 5000 g	1 - 3 %	/-
Chaplin, Mollison	1952	Wintrobe-Tubes 3000 g 30 min	2,0 % / 40 Vol. % 2,5 % / 50 Vol. % 3,0 % / 60 Vol. %	
Owen, Power	1953	Radioaktiver Hkt Wintrobe-Tubes 3000 g 60 min	3,79% - 0,7 %	
Vazquez, Newerly, Yalow, Berson	1954	Wintrobe-Tubes 3000 U/min 30 min	3,0 %	/-
Ebough, Levine, Emerson	1955	Wintrobe-Tubes 2000 g 60 min (Fehler 45 %)	0,0 % / 33 Vol. % 0,8 % / 40 Vol. % 2,0 % / 50 Vol. % 4,0 % / 68 Vol. %	
Furth	1956	Markierungsme- thode mit ⁵¹ Cr-Chlorid 10 000 g Mikrozentrifuge	2,0 ± 1,8 %	/-
Garby, Vuille	1961	Mikrozentrifuge 8720 - 10 900 g 10'	1,1 - 1,5 %	/-

Tab. 6.2.1.: Fortsetzung "trapped plasma"

Autor	Jahr	Methode	"trapped plasma"/Hkt
Albert	1963	Mikrozentrifuge 12 000 g 5 min	5 % / 20 Vol.%
			6 % / 40 Vol.%
			8 % / 69 Vol.%
Rustad	1964	Mikrozentrifuge	2,78 % /-
Chien	1965	Wintrobe-Tubes 1500 g 30 min	4,0 $\pm$ 0,31 % / -
		Mikrozentrifuge 15000 g 5 min	1,0 $\pm$ 0,26 % / -
Kleine	1966	Mikrozentrifuge	0,5 % /-
Murphy	1967	Wintrobe-Tubes	2,2 - 2,3 % / -
Sirs	1968	Mikrozentrifuge 12000 g	5,0 % / -
Burck	1970	Markierung mit ⁵¹ Cr-EDTA	
		12000 g 5 min	2,5 % /-
		25000 g 10 min	2,0 % /-
England, Walford, Waters	1971	Mikrozentrifuge 12000 g 5 min	3,0 % /-
			6,0 % (Fe-Mangel)/-
			20,0 % (Hb-S) /-
Schlimbach, Boroviczény	1971	Mikrozentrifuge 10000 - 15000 U/min	2,78 $\pm$ 0,11 % /-
Linderkamp	1974	Mikrozentrifuge 12000 g 10 min	1,55 % / 25 Vol.%
			2,51 % / 70 Vol.%
England, Down	1975	Wintrobe-Tubes 1250 - 1400 g 30 min	3,65 - 5,33 % / -
Witte	1978	Mikrozentrifuge 12000 g 6 min	3,0 % / 20 Vol.%
			2,6 % / 30 Vol.%
			2,7 % / 40 Vol.%
			2,2 % / 50 Vol.%

So besteht beim Vergleich verschiedener Tierarten mit MCV-Werten von 18 fl (Ziege) bis 112 fl (Elefant) eine enge umgekehrte Beziehung zwischen dem "trapped plasma" und dem MCV (Chien et al. 1965, Stone et al. 1968).

Bei den eigenen Untersuchungen zeigte sich (Abb. 6.2.1.), daß mit steigendem Hämatokrit weniger "trapped plasma" auftrat. Dieses Phänomen kann bei dem vorliegenden Patientengut damit erklärt werden, daß sich unter den Probanden mit niedrigerem Hämatokrit hauptsächlich Kinder mit Eisenmangel und daher mit Mikrozytose fanden.

Mikrozyten wiederum haben eine höhere Viskosität (Abb. 5.4.1. und 5.4.2.) und lassen sich schlechter deformieren (also auch schlechter "packen") als Normozyten und physiologische Makrozyten, wodurch vermehrt "trapped plasma" in den Zwischenräumen auftreten kann.



Über den Einfluß einer Makrozytose auf das "trapped plasma" ist wenig bekannt. England et al. (1972) fanden bei makrozytärer Anämie ein leicht erhöhtes "trapped plasma". Die eigenen Ergebnisse zeigen bei Normo- und Makrozyten ähnliche Werte.

Offensichtlich besitzen pathologische Makrozyten im Gegensatz zu physiologischen bei Neugeborenen ungünstigere rheologische Eigenschaften.

6.2.2. QUETSCHUNG UND ZERSTÖRUNG VON ERYTHROZYTEN

Die erheblichen während der Zentrifugation auf die Erythrozyten einwirkenden Kräfte könnten zu Fragmentierung und Hämolyse führen sowie ein Auspressen von Zellwasser bewirken. Beides würde den Hämatokrit fälschlich erniedrigen.

Die Verdünnungsmethode zur Bestimmung des radioaktiven Hämatokrits müßte, wenn solche Fehler eine Rolle spielten, höhere Hämatokrit- und MCV-Werte ergeben als die korrigierte Mikromethode. Tatsächlich lag der radioaktive Hämatokrit um etwa 2 fl höher als der korrigierte Mikrohämatokrit (Abb. 5.3.7.). Quetschung und Hämolyse der Erythrozyten durch die Mikrozentrifugation sind somit nicht auszuschließen.

6.2.3. ABLESEFEHLER

Ablesefehler entstehen vor allem durch unscharfe Trennung von Erythrozyten und Leukozyten. Die Erythrozytengrenze läßt sich wesentlich besser durch Zwischenschalten von Phthalsäureestern erkennen.

Ein weiterer Vorteil der Verwendung von Phthalsäure soll darin bestehen, daß nur Erythrozyten diese Trennschicht durchdringen, und damit kein "trapped plasma" vorhanden sein soll (Danon u. Malikovsky 1964).

Bestimmungen des "trapped plasma" bei Anwendung von Phthalsäure sind bislang noch nicht durchgeführt worden. Die eigenen Untersuchungen haben gezeigt, daß das "trapped plasma" bei dieser Methode um lediglich 0,5 % geringer war. Die negative Beziehung zwischen "trapped plasma" und MCV blieb bestehen.

Die Ablesegenauigkeit wird zudem durch Verwendung einer Schublehre verbessert. Die üblichen Ablesehilfen haben eine Genauigkeit von 0,5 Vol.%.

6.3. EINFLUSS VON pH, ANTIKOAGULANTIEN UND LAGERUNGS- ZEIT AUF DIE ZU UNTERSUCHENDEN BLUTPROBEN

Schwellung der Erythrozyten und damit Zunahme des MCV entsteht durch Azidose (Collier 1968) und verminderte Osmolarität, Schrumpfung der Erythrozyten durch erhöhte Osmolarität (Murphy 1968). Außerdem werden die Zellen durch Oxygenierung kleiner (Boroviczény 1966).

EDTA-Na₂ vergrößert das MCV ebenfalls durch Azidose (Collier 1968). Erheblicher Zusatz von EDTA-Na₂ oder EDTA-K₂ kann aber auch infolge hoher Osmolarität die Erythrozyten zum Schrumpfen bringen (Brittin et al. 1969b, de Lange et al. 1976). Unterschiedliche Heparinkonzentrationen sind ohne Einfluß auf den Hämatokrit (Dooley et al. 1974).

Osmolarität, pH und Oxygenierung sollen den mit dem Coulter Counter bestimmten Hämatokrit weniger beeinflussen als den Mikrohämatokrit, da die Erythrozyten für die Messungen im Coulter Counter erheblich verdünnt werden (Dubin 1976).

Da erhöhte und verminderte Osmolarität sowie Azidose die Verformbarkeit der Erythrozyten verschlechtern (Murphy 1967, Ham 1968, Schmid-Schönbein et al. 1969b), dürften diese Faktoren zusätzlich die Packbarkeit der Erythrozyten während der Zentrifugation herabsetzen, d. h. das "trapped plasma" vermehren. Diese Störungen wirken sich also auf den Mikrohämatokrit stärker aus als auf den mit dem Coulter Counter ermittelten.

Nach den eigenen Untersuchungen änderte sich der Hämatokrit von bei 4° C aufbewahrtem Blut während der ersten 8 Stunden nicht und nach 24 Stunden nur geringfügig. Bei Zimmertemperatur stieg er stetig an.

Andere Autoren fanden ebenfalls einen nur geringen Einfluß der Lagerungszeit auf den mit Coulter Counter und Mikrozentrifuge bestimmten Hämatokrit, wenn die Proben nicht länger als 24 Stunden und im Kühlschrank aufbewahrt wurden (Dacie u. Lewis 1968, Lampasso 1968, Hamilton u. Davidson 1973, Nicholls 1975, Lawrence 1975).

Sie ermittelten aber auch in bei Zimmertemperatur 24 Stunden lang aufbewahrten Proben eine Zunahme der Hämatokrits von nur 1 Vol.-%.

6.4. VERGLEICH VON COULTER COUNTER UND MIKROZENTRIFUGE UND WERTUNG DER METHODEN FÜR DEN ROUTINEGEBRAUCH

Mehrfachbestimmungen von Hämatokrit und MCV mit dem Coulter Counter ergaben eine mittlere Streuung von $\pm 0,78$ fl für den MCV und $0,45$ Vol.% für den Hämatokrit (Pinkerton 1970). Mit der Mikrozentrifuge wurde ein intra-individueller Fehler beim Hämatokrit von bis zu $\pm 0,5$ Vol.% in $66,3$ % der Fälle, von bis zu ± 1 Vol.% in $30,7$ % der Fälle und bis zu 2 Vol.% in 3 % der Fälle gefunden (Bette 1964). Andere Autoren ermittelten Streuungen von $0,34$ Vol.% und einen Variationskoeffizienten von $\pm 0,79$ % (Linderkamp 1974) und $\pm 0,42$ % (Kleihauer 1967) und $\pm 0,64$ % (Pinkerton 1970).

Der in den eigenen Vorversuchen ermittelte mittlere Fehler von $\pm 0,48$ Vol.% entspricht damit den Literaturangaben. Nach diesen Untersuchungen ist die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse beider Techniken ähnlich (vgl. Zang 1964). Vergleichende Bestimmungen von Hämatokrit und MCV ergaben mit der Mikrozentrifuge einen um etwa 1 Vol.% höheren Hämatokrit und um 1 fl höheren MCV (Pinkerton 1970). Bei dieser Arbeit war jedoch das "trapped plasma" nicht berücksichtigt worden. In den eigenen Untersuchungen bestand im Mittel kein Unterschied zwischen Coulter- und unkorrigierten Mikrozentrifugenwerten für Hämatokrit und MCV. Allerdings war die Streuung zwischen den beiden Methoden erheblich (Abb. 5.1.1.), beim Hämatokrit betrug sie im Mittel $\pm 4,0$ Vol.% und beim MCV ± 10 fl. Die mittlere Abweichung war also größer als 10 %.

Durch Korrektur des Mikrohämatokrits um das "trapped plasma" wurde die Streuung zwischen den beiden Methoden nicht geringer. Demnach sind die Differenzen zwischen den Ergebnissen des Coulter Counters und denen der Mikrozentrifuge nicht auf das "trapped plasma" zurückzuführen. Hierfür spricht auch, daß die Differenzen zwischen dem radioaktiven und dem Coulter-Hämatokrit ebenfalls stark streuten (Abb. 5.2.4.).

Die größten Differenzen zwischen der Coulter- und der Mikromethode traten beim makro- und mikrozytären Blut auf: Z. T. gab der Coulter Counter bei der Messung des mittleren Makrozytenvolumens Werte zwischen 115 und 130 fl an, die bei Ermittlung mit dem Zentrifugenhämatokrit zwischen 90 und 100 fl lagen. Diese große Differenz kann klinisch schwerwiegende Folgen haben, Vitamin-B₁₂-Bestimmungen im Serum, Knochenmarks-

punktionen und anderes nach sich ziehen. In diesem Fall (abnorm hohe Werte) wäre eine Kontrollbestimmung mit der Mikrozentrifugenmethode vorzuziehen.

Eine falsche Schwellenwerteinstellung beim Coulter Counter, durch die extrem kleine bzw. extrem große Erythrozyten nicht erfaßt würden, kann dieses Phänomen nicht erklären, da die Mittelwerte von Hämatokrit und MCV der beiden Methoden unabhängig von der Zellgröße übereinstimmen (Tab. 3, Anhang). Wären extrem kleine Mikrozyten und extrem große Makrozyten vom Counter nicht registriert worden, so hätte sich dies in einem zu hohen MCV und Hämatokrit der Mikrozyten und einem zu niedrigen MCV und Hämatokrit der Makrozyten ausgewirkt. Es ist daher anzunehmen, daß im Bereich abnormer Zellgrößen die Impulsgröße nicht mehr genau proportional dem Volumen der zu messenden Zellen ist. Die Überlegenheit des Coulter Counter bei der Erythrozytenzählung gegenüber der Zählkammermethode steht dagegen außer Zweifel.

Bei richtiger Schwelleneinstellung wird die Erythrozytenzahl vom Coulter Counter sehr exakt gezählt, die Streuung liegt unter 1 % (Pinkerton 1970).

Die Bestimmung des Hämatokrits mit dem Coulter Counter ist zwar weniger genau, vor allem in extremen Zellvolumenbereichen, aber für die Routine ohne Zweifel ausreichend. Hinzu kommt, daß die Mikrozentrifugenmethode in der Routine mit relativ großen Ablesefehlern behaftet ist und für die medizinisch-technische Assistentin zeitaufwendiger ist.

Hämatokrit- und MCV-Werte des Coulter Counters, die klinisch wenig plausibel erscheinen, sollten mit der Mikrozentrifuge kontrolliert werden; dies gilt besonders für mikro- und makrozytäres Blut. Für die wissenschaftliche Fragestellung sollte darüber hinaus der Anteil des "trapped plasma" am Mikrohämatokrit bestimmt werden. Zusätzlich wird diese Technik durch Verwendung von Phthalsäure verbessert.

7. ZUSAMMENFASSUNG

Dieser Arbeit lag die Aufgabe zugrunde, die Meßmethode des inzwischen weitverbreiteten und höchstbeanspruchten Coulter Counters (elektronisches Verfahren) im Vergleich zu herkömmlichen Methoden auf ihre Genauigkeit hin zu prüfen.

Dazu wurden drei Gruppen von Probanden mit verschiedenen großen Erythrozyten gewählt: Gesunde Kinder und Erwachsene mit normal großen Erythrozyten, Neugeborene mit Makrozytose und Patienten, die aufgrund von Eisenmangel eine Mikrozytose aufwiesen.

Für die Bestimmung des Hämatokrits mit der Mikrozentrifuge wurde in einem Vorversuch der Einfluß von Antikoagulantien, Temperatur, Lagerungszeit, Länge der Blutsäule im Kapillarröhrchen und Zentrifugationszeit festgestellt. Dabei erwies sich EDTA-K₂ geringfügig zuverlässiger als Heparin; bei beiden Antikoagulantien sollten die Blutproben jedoch nicht länger als 30 Minuten bei Raumtemperatur bzw. höchstens 8 Stunden im Kühlschrank bis zur Verwendung aufbewahrt werden. Die Länge der Blutsäule hatte bis zu 60 mm keinen Einfluß auf den Hämatokrit. Ab einer Zentrifugationszeit von 2 Minuten war keine wesentliche Änderung der Werte mehr zu erreichen.

Es wurden sodann simultane Messungen des Hämatokrits mit der Mikrozentrifuge sowie der Erythrozytenzahl und des MCV mit dem Coulter Counter durchgeführt. Die Differenzen zwischen den vom Coulter Counter berechneten Hämatokritwerten und denen der Mikromethode waren gering. Die elektronisch gemessenen MCV-Werte lagen durchschnittlich 0,4 fl über denen, die als Quotienten aus Mikrohämatokrit und elektronisch gemessener Erythrozytenzahl errechnet wurden.

Bei Berücksichtigung des "trapped plasma", für das ein mittlerer Wert von 2,57 % gefunden wurde, erhöhten sich die Differenzen entsprechend. Bei allen Vergleichen war die Streuung der Abweichungen erheblich (im Mittel ± 4 Vol.% beim Hämatokrit und ± 10 fl beim MCV) und war bei den Makrozyten am größten.

7. SUMMARY

Under carefully controlled conditions the accuracy of an electronic cell counter had to be examined. For this purpose the hematocrit, the mean corpuscular volume and the red cell count were measured with the Coulter Counter F_N and the results compared with those received from conventional methods (microcentrifugation).

The blood samples were taken from three groups of patients with different red cell sizes: healthy children and adults (normal), newborn babies (macrocytic), and children suffering from iron deficiency anemia (microcytic).

For the estimation of the microhematocrit the influence of anticoagulants, storage, temperature, length of the blood column in capillary tube, and time of centrifugation was investigated.

K_2 -EDTA turned out to be insignificantly more reliable than heparine. However, heparinized as well as EDTA-blood samples should not be stored more than 30 minutes at room temperature and at last 8 hours at 4 C°, respectively.

The length of the capillary tube (up to 60 mm) and the time of centrifugation (exceeding 2 minutes) showed no significant influence on the hematocrit.

The simultaneous determinations by means of the Coulter Counter F_N and the microcentrifuge revealed similar mean hematocrits and MCV values independent of the red cell size. However, the standarddeviations (SD) of the differences of the two methods were considerable (the mean SD of the hematocrit came to ± 4 Vol.% and of the MCV ± 10 fl).

Particularly high errors were found, when the values of micro- or macrocytic cells were compared. The plasma trapping within the red cell column after centrifugation (mean 2,57 %) increased as the red cell size decreased.

Schließlich wurde die Menge an "trapped plasma" zu den verschiedenen Parametern der roten Blutkörperchen in Relation gesetzt:

Mit steigendem Hämatokrit nahm das "trapped plasma" ab, was bei den vorliegenden Versuchen darauf zurückzuführen ist, daß die Probanden mit großen Erythrozyten einen hohen Hämatokrit, aber wenig "trapped plasma", solche mit Mikrozyten einen niedrigen Hämatokrit, aber viel "trapped plasma" aufwiesen. Dies hängt wiederum mit der schlechteren Deformierbarkeit bzw. erhöhten Viskosität der Mikrozyten zusammen: Mit steigendem MCV nahm die Viskosität als Maß der Deformierbarkeit ab.

Es wird empfohlen, diejenigen Coulterwerte, die klinisch nicht plausibel erscheinen, mit der Mikrozentrifuge nachzuprüfen sowie für wissenschaftliche Untersuchungen zusätzlich Phthalsäure zu verwenden und das "trapped plasma" zu bestimmen. Im Zweifelsfall stellt die Ermittlung von MCV aus Mikrohämatokrit (modifiziert mit Phthalsäure und korrigiert um das "trapped plasma") sowie elektronisch gemessener Erythrozytenzahl die Methode der Wahl dar.

In contrary to other authors trapped plasma was found to decrease with increasing hematocrit. This is due to the special selection of blood samples in these experiments:

Patients with large red cells (newborn babies) showed high hematocrit values but little trapped plasma, and those with small red cells (in consequence of iron deficiency anemia) showed a decreased hematocrit and increased trapped plasma.

Microcytes were less deformable than normo- and macrocytes. There was a rough relationship between the red cell deformability and the amount of trapped plasma. This indicates that microcytes cannot be packed as well as normal cells in the centrifugation tubes since they are less deformable.

It is recommended to control all results from Coulter Counter with abnormal values by microcentrifugation.

The most reliable technique is the microhematocrit method. With measurement of the trapped plasma this method can be further improved by use of phthalate. For scientific investigation that procedure is the method of choice.

8. TABELLEN

8.1. TABELLE 1: VERWENDETE ABKÜRZUNGEN

8.1.1. METHODIK

CCF	= Coulter Counter Modell F _N
cP	= Centipoise
d	= Tag(e)
EDTA	= Äthylendimethyltetraacetat
Ery	= Erythrozyten
fl	= Femtoliter = μ^3
h	= Stunde(n)
Hb	= Hämoglobinkonzentration
Hkt	= Hämatokrit
J	= Jahr
¹²⁵ J	= Radioaktiv markiertes Jod
MCH	= mittlerer korpuskulärer Hämoglobingehalt
MCHC	= mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration
MCV	= mittleres korpuskuläres Erythrozytenvolumen
Min	= Minute(n)
PVC	= "packed cell volume" = Erythrozytenpackungsvolumen
RIHSA	= Radiojod-Humanserumalbumin
TP	= "trapped plasma" = in zentrifugierter Erythrozytensäule verbliebenes Restplasma
Visk	= Viskosität
Vol.%	= Volumenprozent

8.1. TABELLE 1 (FORTS.)

8.1.2. INDIZES

C	=	Coulter Counter Methode
CB	=	Berechnung der Coulter-Werte
korr	=	korrigiert um TP
KM	=	korrigierte Mikrohämatokritmethode
KP	=	korrigierte Phthalsäuremethode
M	=	Mikrohämatokritmethode
unkorr	=	abgelesene, unkorrigierte Werte
P	=	Phthalsäuremethode
R	=	Radiojodmethode

8.1.3. STATISTIK

a	=	Achsenabschnitt
b	=	Regressionskoeffizient
ln	=	natürlicher Logarithmus
n	=	Anzahl der Probanden
p	=	Signifikanz des Korrelationskoeffizienten
r	=	Korrelationskoeffizient
SD	=	Standardabweichung
$SD_{\bar{x}}$	=	Standardabweichung des Mittelwertes
sayx	=	Streuung des Achsenabschnittes
sbyx	=	Streuung des Regressionskoeffizienten
syx	=	Standardschätzfehler
V	=	Variationskoeffizient
$\bar{x}$	=	Mittelwert

Abb.	n	$y = a + bx$			sayx	sbyx	syx	r
5.1.1.	107	Hkt _C (Vol.%) = -0,47 + 1,020	Hkt _M (Vol.%)		1,56	0,042	3,72	0,92
5.2.1.	107	MCV _C (fl) = 7,55 + 0,920	MCV _M (fl)		6,35	0,072	9,70	0,78
5.2.2.	107	MCV _C (fl) = 8,66 + 0,930	MCV _{KM} (fl)		6,41	0,073	9,67	0,78
5.2.3.	67	MCV _C (fl) = 33,59 + 0,670	MCV _P (fl)		7,11	0,078	12,10	0,73
5.2.4.	67	MCV _C (fl) = 33,87 + 0,690	MCV _{KP} (fl)		7,02	0,079	12,05	0,73
5.2.5.	67	MCV _{KM} (fl) = 34,81 + 0,620	MCV _{KP} (fl)		5,76	0,065	9,88	0,76
5.2.6.	59	MDV _C (fl) = 11,42 + 0,890	MCV _R (fl)		8,99	0,097	11,49	0,77
5.2.7.	59	MCV _M (fl) = 14,82 + 0,830	MCV _R (fl)		6,88	0,074	8,79	0,83
5.3.1.	107	TP (‰) = 2,77 - 0,030	Ery (Mill./mm ³)		0,29	0,069	0,65	-0,05
5.3.2.	107	TP (‰) = 3,43 - 0,020	Hkt _{KM} (Vol.%)		0,26	0,007	0,62	-0,29
5.3.3.	107	TP (‰) = 4,37 - 0,020	MCV _{KM} (fl)		0,40	0,004	0,60	-0,39
5.3.4.	107	TP (‰) = 2,64 - 0,004	MCV _{KP} (fl)		0,34	0,004	0,58	-0,12
5.3.5.1.	26	TP (‰) = 0,51 + 0,455	Visk ₂₃₀ (cP)		-	-	-	0,24
5.3.5.2.	26	TP (‰) = 1,75 + 0,111	Visk ₂₃ (cP)		-	-	-	0,29
5.4.1.	26	Visk ₂₃₀ (cP) = 5,14 - 0,007	MCV _{KM} (fl)		-	-	-	0,28
5.4.2.	26	Visk ₂₃ (cP) = 8,64 - 0,014	MCV _{KM} (fl)		-	-	-	0,14

8.3. TABELLE 3: MITTELWERTE

COULTER				MIKROZENTRIFUGE (MZ)						MZ + PHTHALSÄURE						125JOD _{dir.}	
ERY	MCV	HKT		HKT _{unk}	MCV	TP	f _{kor.}	HKT _{kor.}	MCV _{kor.}	HKT _{unk}	MCV	TP	f _{orr.}	HKT _{kor.}	MCV _{kor.}	PCV	MCV
4.29 ± 1.01	76.3 ± 9.6	32.8 ± 9.0		32.2 ± 7.46	75.7 ± 6.6	3.0 ± 0.7	0.97 ± 0.010	31.3 ± 7.3	73.5 ± 6.5	30.1 ± 7.0	71.8 ± 6.4	2.9 ± 0.7	0.97 ± 0.006	29.3 ± 6.9	69.8 ± 6.5	33.3 ± 7.1	76.0 ± 6.9
4.19 ± 0.86	91.0 ± 9.1	37.6 ± 8.0		37.8 ± 7.5	90.6 ± 4.0	2.5 ± 0.6	0.98 ± 0.006	36.8 ± 7.4	88.1 ± 3.6	36.3 ± 9.0	91.5 ± 5.3	2.2 ± 0.4	0.98 ± 0.004	35.6 ± 8.9	89.5 ± 5.1	35.6 ± 9.2	92.6 ± 10.0
3.79 ± 0.83	108.0 ± 12.9	41.2 ± 12.2		40.8 ± 10.0	107.5 ± 8.1	2.3 ± 0.4	0.98 ± 0.004	39.9 ± 9.8	105.1 ± 7.9	41.7 ± 10.1	107.2 ± 7.3	2.2 ± 0.2	0.98 ± 0.003	40.8 ± 9.9	104.9 ± 7.2	41.8 ± 9.5	108.2 ± 10.5

MAKROZYTEN NORMOZYTEN MIKROZYTEN

$\bar{x}$ $SD_{\bar{x}}$ $\bar{x}$ $SD_{\bar{x}}$

9. LITERATURVERZEICHNIS

1. ALBERT, S. N.:
Blood volume.
Thomas Springfield (1963)
2. BESSMAN, J., DAVID, JOHNSON, RANDALL, K.:
Erythrozyte volume distribution in normal and abnormal subjects.
Blood, Vol. 46, No. 3 (1975)
3. BETKE, K.:
Hämatologie in der ersten Lebenszeit.
Ergeb. Inn. Med. Kinderheilkd. N. F. 9: 437 (1958)
4. BETKE, K.:
Der Eisenhaushalt des Kindes.
In: Keiderling, Eisenstoffwechsel, S. 128
Thieme Verlag Stuttg. (1959 b)
5. BETKE, K., E. KLEIHauer, H. PETER, G. POSER,
J. SCHLICHT:
Rote Blutwerte bei gesunden Kindern aus Familien und
aus Heimen.
Dtsch. Med. Wochenschr. 25: 1197 (1964)
6. BOGGS, DANE R.:
Normal hematocrits in preadolescent children.
Am. J. Clin. Path. Vol. 66 No.2 (1976)
7. BOROVICZÉNY, K. G. v.:
Standardization in haematology. III.
Bibl. Haematol Fasc. 24 (1966)
8. BOROVICZÉNY, K. G. v.:
Bestimmung von Erythrozytenzahl, Hämoglobin und
Hämatokrit.
Dtsch. Med. Wochenschr., 92: 445 (1967)
9. BORUD, O., STRØMME, J. H.:
Evaluation of celloscope 421 for the simultaneous
measurement of red blood cells, haematocrit and mean
cell volume.
Scand. J. Haematol 13, 246 - 251 (1974)

10. BRECHER, G., HALEY, J. E., PRENANT, M., BESSIS, M.:
Macronormoblasts, macroreticulocytes and macrocytes.
Blood cells 1, 547 - 556 (1975), Springer-Verlag.
11. BRITTIN, G. M., BRECHER, G., JOHNSON, C. A.,
ELASHOFF, R. M.:
Stability of blood in commonly used anticoagulants
Am. J. Clin. Path. 52: 690 (1969)
12. BRITTIN, G. M., BRECHER, G., JOHNSON, C. A.,
STUART, J.:
Spurious macrocytosis of antibodycoated red cells.
Am. J. Clin. Pathol. 52: 237 (1969)
13. BRITTIN, G. M., BRECHER, G., JOHNSON, C. A.:
Elimination of error in hematocrit produced by
excessive EDTA.
Am. J. Clin. Pathol. 52: 780 (1969 b)
14. BUCHER, H. J.:
Qualitätskontrolle im hämatologischen Labor.
Schweiz. Med. Wochenschr. 102: 1857 (1972)
15. BURCK, H.-Chr.:
Fehler und Fortschritt der Hämatokritmethode.
Dtsch. Med. Wochenschr. 95: 1362 (1970)
16. CARD, R. T., WEINTRAUB, L. R.:
Metabolic abnormalities of erythrocytes in severe iron
deficiency.
Blood 37: 725 (1971)
17. CHANARIN, J., ENGLAND, J. M., HOFFBRAND, A. V.:
Significance of large red blood cells.
Br. J. Haematol. 25: 351 (1973)
18. CHAPIN, M. A., ROSS, J. F.:
The determination of the true cell volume by the dye
dilution, by protein dilution and with radioactive iron.
The error of the centrifuge hematocrit.
Am. J. Physiol. 137: 447 (1942)
19. CHAPLIN, H. J., MOLLISON, P. L.:
Correction for plasma trapped in the red cell column of
the hematocrit.
Blood 7: 1227 (1952)

20. CHAPLIN, H., MOLLISON, P. L., VETTER, H.:
The body/venous hematocrit ratio: Its constancy over
a wide hematocrit range.
J. Clin. Invest. 32: 1309 (1953)
21. CHIEN, S., DELLENBACK, R. J., USAMI, S., GREGERSEN, M. I.:
Plasma trapping in hematocrit determination.
Differences among animal species.
Proc. Soc. Exp. Biol. 11a: 1155 (1965)
22. COLLIER, B.:
Some problems in the use of the coulter counter for
erythrocyte total counts and volume distribution.
J. Clin. Pathol. 21: 179 (1968)
23. COOK, J. S.:
Size determination of human erythrocytes with an
electronic counter.
J. Lab. Clin. Med. 70: 849 (1967)
24. COOPERSMITH, A., INGRAM, M.:
Red cell volumes and erythropoiesis.
II. Age: Density: Volume relationships of macrocytes.
Am. J. Physiol. Vol. 216 No. 3 (1969)
25. COULTER (COUNTER):
Modell FN: Anleitungs- und Wartungshandbuch
Coulter Electronics GmbH, Krefeld
26. CROSLAND-TAYLOR, P.:
Problems of the red-cell volume.
Quality control in haematology.
Academic Press: 97 (1975)
27. DACIE, J. V., LEWIS, S. M.:
Practical haematology
4th edn. J. and A. Churchill Ltd. London (1968)
28. DANON, D., MARIKOVSKY, Y.:
Determination of density distribution of red cell
population
J. Lab. Clin. Med. Vol. 64 No. 4: 668 (1964)

29. DEUTSCH, E., GEYER, G.:
Laboratoriumsdiagnostik. Normalbereich der Ergebnisse
und Interpretation abnormer Befunde.
Med.-Wiss. Buchreihe d. Schering AG, Berlin,
2. Auflage, (1975)
30. DOOLEY, P. C., MORRIS, R. H. J., WILLIAMS, V. J.,
BOFINGER, V. J.:
An investigation into the precision of micro-hematocrit
determinations of sheep blood.
Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. Vol. 52: 663 (1974)
31. DUBIN, S. E., PISZCZEK, J. E., BEARD, R.,
SCHMUKLER, R.:
Effects of anticoagulants on packed cell volume
measurement.
Lab. Anim. Sci. Vol. 26. No. 4: 586 (1976)
32. EBOUGH, F. G., P. LEVINE, C. P. EMERSON:
The amount of trapped plasma in the red cell mass of
the hematocrit tube.
J. Lab. Clin. Med. 9/55 Vol. 46, No. 3: 409 (1955)
33. ECONOMOU - MAVROU, C., TSENGHI, C.:
Plasma trapping in the centrifuged red cells of children
with severe thalassaemia.
J. Clin. Pathol. 18: 203 (1965)
34. ENGLAND, J. M., WALFORD, D. M., WATERS, D. A. W.:
Epitaph for the M. C. H. C.
Br. Med. J. 4: 232 (1971)
35. ENGLAND, J. M., WALFORD, D. M., WATERS, D. A. W.:
Re-assessment of the reliability of the haematocrit.
Br. J. Haematol. 23: 247 (1972)
36. ENGLAND, J. M., DOWN, M. C.:
Red cell volume distribution curves and the measurement
of anisocytosis.
Lancet II, No. 7860: 701 (1974)
37. ENGLAND, J. M., DOWN, M. C.:
Determination of the packed cell volume using
131 J - Human - Serum - Albumin.
Br. J. Haematol. 30: 365 (1975)

38. ENGLAND, J. M., DOWN, M. C.:
Measurement of mean cell volume using electronic
particle counters.
Br. J. Haematol. 32: 403 (1976)
39. ERSLEV, A. J., ATWATER, J.:
Effect of mean corpuscular hemoglobin concentration
on viscosity.
J. Lab. Clin. Med. Vol. 62 No. 3: 401 (1963)
40. FURTH, F. W.:
Effect of spherocytosis on volume of trapped plasma
in red cell column of capillary and wintrobe hematocrits.
J. Lab. Clin. Med. 48: 421 (1956)
41. GARBY, L., VUILLE, J. C.:
The amount of trapped plasma in a high speed micro-
capillary hematocrit centrifuge.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 13: 642 (1961)
42. DOCUMENTA GEIGY
Wissenschaftliche Tabellen
7. Auflage, Geigy, Basel (1969)
43. GREGERSEN, M. J., SCHIRO, H.:
The behaviour of the dye T-1824 with respect to its
absorption by red blood cells and its fate in blood
undergoing coagulation.
Am. J. Physiol. 121: 284 (1938)
44. HACKLEY, G. G., WEISS, S. P.:
Further notes on the use of salts of EDTA as an
anticoagulant.
Am. J. Clin. Path. 25: 1090 (1955)
45. HAM, T. H., DUNN, R. H., SAYRE, R. W., MURPHY, J. R.:
Physical properties of red cells as related to effects
in vivo. Increased rigidity of erythrocytes as measured
by viscosity of cells altered by chemical fixation,
sickling, hypertonicity.
Blood 32, No. 6: 847 (1968)
46. HAMILTON, P. J., DAVIDSON, R. L.:
The interrelationships and stability of coulter-S-deter-
mined blood indices.
J. Clin. Pathol. 26: 700 (1973)

47. HATTERSLEY, P. G., GERARD, P. W., CAGGIANO, V.,
NASH, G. R.:
Erroneous values on the model S coulter counter due to
high titer cold agglutinins.
Am. J. Clin. Pathol. 55: 442 (1971)
48. HEDIN, S. G.:
Der Hämatokrit, ein neuer Apparat zur Untersuchung
des Blutes.
Skand. Archiv f. Physiol. 2: 134 (1890)
49. HELLERSTEIN, S., SEES, W., SURAPATHANA, L.:
Hemoglobin concentration and erythrocyte cation content.
J. Lab. Clin. Med. Vol. 76, No. 1: 10 (1970)
50. HELLERSTEIN, S., BUNTHRARUNGROJ, T.:
Erythrocyte composition in sickle-cell anemia
J. Lab. Clin. Med., Vol. 83 No. 4 p. 611 (1974)
51. HLAD, C. J., HOLMES, J. H.:
Factors affecting hematocrit determinations:
Trapped plasma, its amount and distribution.
J. Appl. Physiol. 5: 457 (1953)
52. INTERNATIONAL COMMITTEE FOR STANDARDIZATION IN
HAEMATOLOGY:
Recommendations for haemoglobinometry in human blood.
Brit. J. Haemat. 13 (Supl.): 71 (1967)
53. JACKSON, M. D., NUTT, M. E.:
Intercellular plasma and its effect on absolute red cell
volume determination.
J. Physiol. 115: 196 (1951)
54. KLEIHauer, E.:
Beurteilung hämatologischer Befunde: Quantitative Befunde
zur Beurteilung der Erythropoese. Erythrozytenzahl,
Hämatokritwert, Hämoglobinkonzentration, Erythrozyten-
maße und -indices.
OPITZ UND SCHMID: Handbuch d. Kinderhkd., Bd. 6: 676
Springer, Heidelberg (1967)
55. KLEINE, N.:
Zit. n. Documenta
Bibl. haemat. Basel, Heft 24: 118 (1966)

56. KLOSE, H., LINDERKAMP, O., v. GOSEN, L., BETKE, K.:
Rheologische Untersuchungen von Eisenmangel-Erythrozyten (Abstrakt). Blut 33: 203 (1976)
57. KOERPER, M. A., MENTZER, W. G., BRECHER, G.,
DALLMANN, P. R.:
Developmental change in red blood cell volume:
Implication in screening infants and children for iron
deficiency and thalassemia trait.
J. Pediatr. Vol. 89 No. 4: 580 (1976)
58. KOMAZAWA, M., GARCIA, A. M., OSKI, F. A.:
The relation of red cell size to fetal hemoglobin
concentration in the term infant.
J. Pediatr. Vol. 85 No. 1: 114 (1974)
59. KUSE, R., HAUSMANN, K.:
Aufdeckung von Reagenzienfehlern durch interne Quali-
tätskontrolle für den Coulter Counter S.
Blut 32: 297 (1976)
60. LAMPASSO, J. A.:
Changes in hematologic values induced by storage of
EDTA-human blood for varying periods of time.
Am. J. Clin. Pathol. 49: 443 (1968)
61. LANGE, J. A. de, RUTTEN, W. P. F., SCHMIDT, N. A.,
EERNISSE, J. G., VELTKAMP, J. J.:
Automation in the hematology laboratory.
J. Clin. Chem. Clin. Biochem. Vol. 14: 485 (1976)
62. LAWRENCE, A. C. K., BEVINGTON, J. M., YOUNG, M.:
Storage of blood and the mean corpuscular volume.
J. Clin. Pathol. Vol. 28: 345 (1975)
63. LINDERKAMP, O.:
Hämatologische und hämodynamische Daten von Säuglingen
und Kindern mit angeborenen Herzfehlern unter besonde-
rer Berücksichtigung des Blutvolumens.
Dissertationsarbeit, München (1974)
64. LINDERKAMP, O., MAYR, S., SENGESPEIK, C., KLOSE, H.,
BETKE, K.:
Eisenmangel bei Vorliegen von zyanotischen Herzvitien:
Eine Ursache für zerebrale Komplikationen.
Monatsschr. Kinderheilkd. 124: 301 (1976)

65. MATTERN, C. F. T., BRACKETT, F. S., OLSON, B. J.:
Determination of number and size of particles by
electrical gating: blood cells.
J. Applied Physiol. 10: 56 (1967)
66. MOLLISON, P. L.:
Blood transfusion in clinical medicine.
4th. edn. Blackwell Scientific Publications Oxford
(1967)
67. MURPHY, J. R.:
The influence of pH and temperature on some physical
properties of normal erythrocytes and erythrocytes from
patients with hereditary spherocytosis.
J. Lab. Clin. Med., Vol. 69 No. 5: 758 (1967)
68. MURPHY, J. R.:
Hemoglobin CC disease: Rheological properties of
erythrocytes and abnormalities in cell water.
J. Clin. Invest. Vol. 47, 1483 (1968)
69. NICHOLLS, P. D.:
Stability of blood parameters in pre-diluted samples
prepared for the coulter S counter.
Med. Lab. Technol. 32, 37 - 39 (1975)
70. NIEPAGE, H.:
Über die Brauchbarkeit des mittleren Volumens (MCV), des
mittleren Hämoglobingehaltes (MCH) und der mittleren
Hämoglobinkonzentration (MCHC) der roten Blutkörperchen
zur Kennzeichnung von Erythrozytenpopulationen beim Hund.
Zentralbl. Veterinärmed., Reihe A, Bd. 21, Heft 3: 173
(1974)
71. OWEN, C. A., POWER, M. H.:
Intracellular plasma of centrifuged human erythrocytes
as measured by means of jodo 131 - albumin.
J. Appl. Physiol. 5: 323 (1953)
72. PEARSON, H. A., O'BRIEN, R. T., MC INTOSH, S.:
Screening for thalassaemia trait by electronic measure-
ment of mean corpuscular volume.
N. Engl. J. Med. 288: 351 (1973)

73. PINKERTON, P. H., SPENCE, J., OGILVIE, J. C.,
RONALD, A., MARCHANT, P., RAY, P. K.:
An assessment of the coulter counter model S
J. Clin. Pathol. 23: 68 (1970)
74. RAESS, B. K., VINZENZI, F. F.:
Potential error in determination of red cell mean
corpuscular volumes.
Lancet II No. 7942: 985 (1975)
75. RUSTAD, H.:
Correction for trapped plasma in micro-hematocrit
determination.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 16: 677 (1964)
76. SACHS, L.:
Statistische Auswertungsmethoden
L. A. Springer, Heidelberg (1969)
77. SCHLIMBACH, H. P., BOROVICZÉNY, K. G. v.:
Hämatokritbestimmung.
Ärztl. Lab. 17: 78 (1971)
78. SCHMAIER, A. H., MAURER, H. M., JOHNSTON, C. L.,
SCOTT, R. B., STEWART, L. M.:
Electronically determined red cell indices in a
predominantly black urban population of children
4 to 8 years of age.
J. Pediatr. 84/4: 559 (1974)
79. SCHMID-SCHÖNBEIN, H., WELLS, R., GOLDSTONE, J.:
Influence of deformability of human red cells upon
blood viscosity.
Circ. Res. Vol. 25: 131 (1969)
80. SIRS, J. A.:
The measurement of the haematocrit and flexibility of
erythrocytes with a centrifuge.
Biorheology Vol. 5: 1 (1968)
81. STONE, H. O., THOMPSON, H. K., SCHMIDT-NIELSEN, K.:
Influence of erythrocytes on blood viscosity.
Am. J. Physiol. Vol. 214 No. 4: 913 (1968)

82. TAYLOR, D. J., LIND, T.:
Haematological changes during normal pregnancy.
Iron induced macrocytosis.
Br. J. Obstetr. Gyn. Vol. 83 No. 10 (1976)
83. THOM, R., HAMPE, A., SAUERBREY, G.:
Die elektronische Volumenbestimmung von Blutkörperchen
und ihre Fehlerquellen.
Z. Gesamte Exp. Med. 151: 331 (1969)
84. TORLONTANO, G., TATA, A., CAMAGNA, A.:
A rapid screening test for thalassaemic trait.
Acta Haematol. 48: 234 (1972)
85. UR, A., LUSHBAUGH, C. C.:
Some effects of electrical fields on red blood cells
with some remarks on electronic red cell sizing.
Br. J. Haematol. 15: 527 (1968)
86. VAZQUEZ, O. N., NEWERLY, K., YALOW, R. S.,
BERSON, S. A.:
Estimation of trapped plasma with J ¹³¹ - albumin,
critique of methods.
J. Appl. Physiol. 6: 437 (1954)
87. WAINSCOT, J. S.:
Raised mean cell volume and mycoplasma pneumoniae
infection.
Br. Med. J. p. 1414 (1977)
88. WINTROBE, M. M.:
Clinical hematology.
6th. ed. Lea u. Febiger, Philadelphia (1967)
89. WELLS, R. E., DENTON, R., MERRIL, E. W.:
Measurement of viscosity of biologic fluids
by cone plate viscosimeter.
J. Lab. Clin. Med. 57: 646 (1961)
90. WEISBROT, J. M., WALDNER, D. K.:
An evaluation of the haema-count MK 40 blood counting system.
Am. J. Clin. Pathol. 66: 883 (1976)

91. YOUNG, M., LAWRENCE, A. C. K.:
The influence of extraneous factors on coulter S
measurement of the mean corpuscular volume.
J. Clin. Pathol. 28, p. 12 (1975)
92. ZANG, K. D.:
Automatische Zählung und Volumenbestimmung von Zellen
auf elektronischem Wege.
Dtsch. Med. Wochenschr., 89. Jhrg. 36: 1710 (1964)



LEBENS LAUF

Am 15. September 1949 wurde ich als erstes von vier Kindern des Diplom-Ingenieurs Just Söhlemann und der Krankenschwester Hildegard Söhlemann, geb. Isermann, in Backnang/Baden-Württemberg geboren.

Während meiner Schulzeit besuchte ich das Goldberggymnasium in Sindelfingen und das Musische Gymnasium in München. An letzterem legte ich 1969 das Abitur ab.

1969/70 studierte ich an der Pädagogischen Hochschule Hannover Psychologie, Pädagogik und Musik; das Studienjahr 1970/71 verbrachte ich als "assistant teacher" an einer "senior-highschool" in Minnesota/USA.

Mit dem Medizinstudium an der Ludwig-Maximilians-Universität München begann ich im Wintersemester 1971, bestand hier im Frühjahr 1974 das Physikum, im März 1975 den ersten, im März 1977 den zweiten und im Mai 1978 den dritten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung.

In der Zeit von Juli 1976 bis Juni 1977 arbeitete ich am experimentellen Teil der vorliegenden Promotionsarbeit. Das Praktische Jahr von April 1977 bis März 1978 absolvierte ich an der Universitäts-Kinderklinik und der Medizinischen Universitätsklinik Innenstadt München sowie in der Chirurgischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses Ingolstadt.

Seit Juli 1977 bin ich mit Dr. med. Axel Witte verheiratet.

Herrn Prof. Dr. K. Betke danke ich sehr für die Überlassung des Themas, die wertvollen Anregungen und die Korrektur der Arbeit, Herrn Prof. Dr. H. Ehrhart für die Übernahme des Koreferats.

An dieser Stelle möchte ich ganz besonders Herrn Dr. O. Linderkamp für seine freundliche Unterstützung und die nützlichen Hinweise bei der Bearbeitung des Themas danken.

Herrn Dipl.-Math. M. Bauer, Fräulein M. Güntner und Frau I. Held danke ich für ihre technische Hilfe.

